

---

**Effekte einer Nährstoffsupplementation (Molkenprotein und Kaliumbicarbonat)  
in Kombination mit Kraft- und Ganzkörpervibrationstraining auf den  
Knochenabbau in Bettruhe**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Ernährungs- und Haushaltswissenschaften

(Dr.oec.troph.)

der

Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften

von

**SONJA GRAF**

aus Berlin

Referent: Prof. Dr. Martina Heer

Korreferenten: Prof. Dr. Peter Stehle

Tag der mündlichen Prüfung: 23.10.2015

Erscheinungsjahr: 2015

Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften

## Kurzzusammenfassung

### Effekte einer Nährstoffsupplementation (Molkenprotein und Kaliumbicarbonat) in Kombination mit Kraft- und Ganzkörpervibrationstraining auf den Knochenabbau in Bettruhe

Immobilisationsbedingte Veränderungen des muskuloskeletalen Systems führen auf Grund von fehlender Belastung zu Inaktivitätsatrophie und –osteoporose. Bereits nach kurzer Zeit wird dies durch einen verstärkten Knochenabbau und somit gesteigerte Exkretion der Knochenresorptionsmarker ersichtlich. Kraft- und Vibrationstraining senkt den immobilisationsbedingten Knochenabbau, jedoch nicht vollständig. Eine muskelaufbauende Wirkung bedingt durch eine erhöhte Zufuhr von Protein, vornehmlich Molkenprotein, wird zunehmend diskutiert. Gleichzeitig scheint eine erhöhte Zufuhr von tierischem Protein, auf Grund des hohen Gehalts an schwefelhaltigen Aminosäuren und des geringen Gehalts an Basenvorläufern die Knochenresorption zu steigern, während die Supplementation eines Alkalisalzes dies kompensiert. In welcher Form die Kombination von Kraft- und Vibrationstraining sowie eine Nährstoffsupplementation (Molkenprotein und Kaliumbicarbonat ( $\text{KHCO}_3$ )) den durch Bettruhe induzierten Knochenabbau verhindert, soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden.

Hierfür wurde eine randomisierte, *cross-over* Interventionsstudie an gesunden, männlichen Versuchspersonen im Stoffwechsellabor des Instituts für Raumfahrtmedizin und Physiologie (Toulouse) durchgeführt. Die Studie unterteilte sich in drei Studienkampagnen. Jede Kampagne bestand aus einer siebentägigen Adaptationsphase, einer 21-tägigen Interventionsphase in 6° Kopftiefe, gefolgt von einer sechstägigen Erholungsphase. Die Interventionsphase unterteilte sich in eine Trainingskampagne mit Kraft- und Vibrationstraining, eine Kampagne in der das Training mit der Supplementation von Molkenprotein (0,6 g/kg Körpergewicht pro Tag) und  $\text{KHCO}_3$  (90 mmol/d) kombiniert wurde und eine Kontrollkampagne ohne Supplementation und Training. Zwischen den Kampagnen lag eine Auswaschphase von 126 Tagen. Während der gesamten stationären Aufenthalte erfolgte eine standardisierte Nährstoffzufuhr, die den Einfluss anderer als der supplementierten Nährstoffe minimieren sollte und streng kontrolliert wurde. Der Einfluss auf den Calcium- und Knochenstoffwechsel wurde durch die Bestimmung von Knochenresorptions- (Carboxyterminales Kollagen-Typ-I-Telopeptid, Aminoterminal Kollagen-Typ-I-Telopeptid) und Knochenformationsmarkern (knochenspezifische alkalische Phosphatase, Aminoterminal Propeptid des Typ 1 Prokollagens), sowie der Calciumexkretion, bestimmt. Zur Erfassung des systemischen Säuren-Basen-Status wurde die Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin bestimmt sowie die potentielle renale Säurelast der Diät berechnet. Anhand der Stickstoffbilanz, berechnet aus Stickstoffaufnahme und –ausscheidung, wurden Veränderungen des Gesamtkörper-Proteingehalts erfasst.

Beide Interventionen während Bettruhe, Kraft- und Vibrationstraining alleine sowie in Kombination mit Nährstoffsupplementation in Form von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$ , führten zu einer niedrigeren Knochenresorptionsrate in Immobilität als in der Kontrollkampagne. Die Kombination mit der Nährstoffsupplementation konnte diesen Effekt nicht verstärken. Das alleinige Kraft- und Vibrationstraining bewirkte eine gesteigerte Knochenformationsrate in Immobilität. Gleichzeitig verhinderten beide Interventionen während Bettruhe immobilisationsbedingte Stickstoffverluste, wenngleich die Kombination mit der Nährstoffsupplementation diesen Effekt nicht verstärken konnte. Die erhöhte Säurelast bedingt durch die Aufnahme von 1,8 g Protein pro Tag (1,2 g Protein + 0,6 g Molkenprotein) wurde durch die Gabe von 90 mmol  $\text{KHCO}_3$  kompensiert, was sich in der reduzierten Netto-Säureausscheidung aufzeigt.

Die Ergebnisse führen zu folgenden Schlussfolgerungen:

1. Kraft- und Vibrationstraining führt zu einer niedrigeren Knochenresorptionsrate in Immobilität und senkt immobilisationsbedingte Proteinverluste. Gleichzeitig wird die Knochenformationsrate gesteigert.
2. Die Supplementation von 90 mmol/d  $\text{KHCO}_3$  kompensiert die erhöhte Säurelast der Diät bei erhöhter Proteinzufuhr von 1,8 g/kg/d. Dies wirkt einer Steigerung der Knochenresorptionsrate sowie Steigerung der Calciumexkretion entgegen.

## **Abstract**

### **Effect of a supplementation with whey protein and potassium bicarbonate in combination with resistive vibration exercise on bone resorption in bed rest**

Immobilization-induced changes of the musculoskeletal system lead to disuse atrophy and osteoporosis due to reduced mechanical loading. Already after a short time, these changes will be seen by an increased bone resorption and thus increased excretion of bone resorption markers. A combination of resistive and vibration training reduces immobility-induced bone loss, however no full compensation of muscle and bone loss could be obtained. On the other hand promotion of muscle mass due to a high protein intake, especially in whey protein, is currently under discussion. At the same time a high intake of animal protein in combination with low intake of base precursors seems to increase bone resorption due to a high content of sulfur-containing amino acids, whereas a supplementation with an alkaline salt seems to compensate these effects. The purpose of this study is to examine the effect of a combination of resistive vibration exercise with supplementation of whey protein and potassium bicarbonate ( $\text{KHCO}_3$ ) on bone resorption in bed rest.

Therefore a randomized, three-campaign crossover intervention study in healthy male subjects in the metabolic laboratory of the Institute for Space Medicine and Physiology (Toulouse) was performed. All campaigns consisted of a seven-day pre-bed rest ambulatory period, a 21-day intervention period in 6° head-down tilt bed rest, followed by a six-day post-bed rest recovery period. The intervention period was divided into a resistive and vibration exercise campaign, a campaign in which the training with the supplementation of whey protein (0.6 g/kg body weight per day) and  $\text{KHCO}_3$  (90 mmol/d) was combined and a control campaign without supplementation and training. The washout period between campaigns was 126 days. Nutrient supply was standardized across the campaigns to minimize the influence of other nutrients than the supplemented and has been strictly controlled. The effect on calcium and bone metabolism has been determined by bone resorption markers (carboxy- and amino-terminal collagen crosslinks) and bone formation markers (bone alkaline phosphatase, procollagen 1 N-terminal propeptide), as well as calcium excretion. To detect the systemic acid-base status, the net acid excretion was determined in 24h-urine, and the potential renal acid load of the diet was calculated. Changes of whole body protein content were measured by nitrogen balance, calculated from nitrogen intake and excretion in 24h-urine.

Both interventions during bed rest, resistive vibration exercise alone, as well as in combination with supplementation of whey protein and  $\text{KHCO}_3$  lead to a lower rate of bone resorption in immobility than in the control campaign. The combination of whey protein and  $\text{KHCO}_3$  could not further increase this effect. The sole resistive vibration exercise increased bone formation rate in immobility. At the same time both interventions prevented disuse-induced nitrogen losses, although the combination of whey protein and  $\text{KHCO}_3$  could not amplify this effect. The increased acid load due to the ingestion of 1.8 g of protein per day (1.2 g protein + 0.6 g whey protein) was compensated by the administration of 90 mmol  $\text{KHCO}_3$ . This effect was also shown in the reduced net acid excretion.

To conclude:

1. Resistive and vibration exercise leads to a lower bone resorption rate in immobility and reduces disuse-induced protein losses. Contemporarily bone formation rate is increased.
2. Supplementation with 90 mmol  $\text{KHCO}_3$  per day compensates the increased acid load of a diet consisting of 1.8 g protein/kg body weight per day. This counteracts an increase in bone resorption and an increase in calcium excretion.

# INHALTSVERZEICHNIS

Kurzzusammenfassung

Abstract

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>HINTERGRUND UND STAND DER FORSCHUNG .....</b>	<b>3</b>
2.1	Immobilisationsbedingte Auswirkungen auf den Knochen .....	3
2.2	Trainingsmaßnahmen .....	6
2.3	Ernährungsmaßnahmen .....	7
2.3.1	Einfluss einer erhöhten Proteinzufuhr auf das muskuloskeletale System .....	8
2.3.2	Auswirkungen einer erhöhten Proteinzufuhr auf den Knochenstoffwechsel.....	9
2.3.3	Alkalisalze und deren Effekte auf das muskuloskeletale System .....	13
2.4	Ziel der Arbeit.....	15
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>16</b>
3.1	Studiendesign .....	16
3.2	Metabolisches Labor .....	18
3.3	Probandenkollektiv.....	19
3.3.1	Rekrutierung und Screening.....	19
3.3.2	Probanden .....	21
3.4	Diät.....	22
3.4.1	Energiezufuhr .....	22
3.4.2	Nährstoffzufuhr.....	24
3.4.3	Erstellung der Menüpläne .....	26
3.5	Supplementation.....	28
3.5.1	Supplementation von Molkenprotein .....	28
3.5.2	Supplementation von Kaliumbicarbonat .....	28

<b>3.6</b>	<b>Kraft- und Vibrationstraining .....</b>	<b>29</b>
<b>3.7</b>	<b>Physiotherapie .....</b>	<b>32</b>
<b>3.8</b>	<b>Blutabnahmen.....</b>	<b>33</b>
<b>3.9</b>	<b>24h-Urin .....</b>	<b>33</b>
<b>3.10</b>	<b>Bestimmungsmethoden.....</b>	<b>34</b>
3.10.1	Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels.....	34
3.10.1.1	Calciumexkretion .....	34
3.10.1.2	Knochenformationsmarker (PINP, bAP) .....	34
3.10.1.3	Knochenresorptionsmarker (CTX, NTX) .....	34
3.10.2	Parameter des Säuren-Basen-Status.....	35
3.10.2.1	Potentielle renale Säurelast der Diät .....	35
3.10.2.2	Netto- Säureausscheidung im 24h-Urin .....	36
3.10.3	Stickstoffbilanz .....	37
<b>3.11</b>	<b>Statistische Auswertung .....</b>	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>39</b>
<b>4.1</b>	<b>Parameter des Calcium und Knochenstoffwechsels.....</b>	<b>39</b>
4.1.1	Knochenresorptionsmarker .....	39
4.1.2	Calciumexkretion.....	42
4.1.3	Knochenformationsmarker .....	43
<b>4.2</b>	<b>Parameter des Säuren-Basen-Status.....</b>	<b>45</b>
4.2.1	Potentielle renale Säurelast (PRAL) der Diät.....	45
4.2.2	Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin.....	46
<b>4.3</b>	<b>Stickstoffbilanz .....</b>	<b>47</b>
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>49</b>
<b>5.1</b>	<b>Schlussfolgerung und Ausblick .....</b>	<b>56</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>59</b>

<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>61</b>
<b>8</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>77</b>

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 2.1: Das Mechanostaten Modell nach Frost et al. (Frost, HM 1987).....	4
Abbildung 2.2: Einfluss von Inaktivität auf das muskuloskeletale System .....	4
Abbildung 2.3: Einfluss eines Kraft- und Vibrationstrainings auf das muskuloskeletale System in Inaktivität.....	7
Abbildung 2.4: Effekte einer erhöhten Proteinzufuhr auf das muskuloskeletale System in Bettruhe .....	13
Abbildung 2.5: Auswirkungen einer erhöhten Proteinzufuhr kombiniert mit einem Alkalisalz auf das muskuloskeletale System.....	15
Abbildung 3.1: Studiendesign der MTBR-MNX-Studie .....	17
Abbildung 3.2: Modell der 6° Kopftieflage. © DLR .....	18
Abbildung 3.3: Grundriss und Außenansicht des klinischen Forschungsinstituts für Raumfahrtmedizin und Physiologie (MEDES) in Toulouse, Frankreich. ....	19
Abbildung 3.4: Deltatrac™ II MBM-200 Metabolic Monitor zur Messung des Ruhe-Nüchtern-Umsatz.....	23
Abbildung 3.5: Grammgenaues Abwiegen in der metabolischen Bilanzküche von MEDES.....	27
Abbildung 3.6: Galileo® Space Gerät.....	30
Abbildung 3.7: Trainingsablauf: Hockübung (1), Fernsenheben, unilateral (2), Fernsenheben, bilateral (3).....	30
Abbildung 3.8: Bewegungsmaß beim Fernsenheben; Plantar- (↓) und Dorsalflexion (↑) .....	32
Abbildung 4.1: CTX-Exkretion in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen .....	40
Abbildung 4.2: Renale NTX-Exkretion in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen .....	41



Abbildung 4.3: Calcium-Exkretion in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen .....	42
Abbildung 4.4: PINP-Konzentration im Serum in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen.....	44
Abbildung 4.5: bAP-Konzentration im Serum in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen .....	45
Abbildung 4.6: Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin (mEq/d) .....	47
Abbildung 4.7: Stickstoff-Bilanz (g/d) in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen .....	48

## TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 3.1: Anthropometrische Daten der acht Probanden mit vollständigen Datensätzen als Mittelwerte (MW) $\pm$ Standardabweichung (SD) .....	21
Tabelle 3.2: Tägliche Nährstoffzufuhr in der Adaptations- (Prä), Interventions- (HDT) und Erholungsphase (Post) während der drei Kampagnen .....	25
Tabelle 3.3: Vitamin D-Spiegel (mg/dl) im Serum der 8 Probanden als Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung pro Studienkampagne .....	26
Tabelle 3.4: Molkenproteinisolat .....	28
Tabelle 3.5: Darstellung der fünf Übungseinheiten eines Trainingsintervalls .....	31
Tabelle 3.6: Blutabnahmezeitpunkte .....	33
Tabelle 3.7: Urinanalysetage .....	33
Tabelle 4.1: Baseline-Level der Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels .....	39
Tabelle 4.2: Potentielle renale Säurelast der Diät (ohne $\text{KHCO}_3$ -Gabe) (mEq/d) .....	46



## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ANOVA	<i>analysis of variance</i> (engl.), Varianzanalyse
bAP	<i>bone alkaline phosphatase</i> (engl.), knochenspezifische Phosphatase
BCAA	<i>branched-chain amino acids</i> (engl.), verzweigtkettige Aminosäuren
BMI	<i>Body Mass Index</i> (engl.), Körpermassenindex
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca <sup>2+</sup>	Calciumion
°C	Grad Celsius
CNES	<i>Centre national d'études spatiales</i> (franz.), Französische Raumfahrtbehörde
CON	<i>control</i> (engl.), Kontrolle
CTX	Carboxyterminales Kollagen-Typ-I-Telopeptid
Cys	Cystein
d	<i>day</i> (engl.), Tag
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
d.h.	das heisst
DLR	Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e.V.
DXA	<i>Dual energy X ray absorptiometry</i> (engl.), Dual-Energie-Röntgenabsorptiometrie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESA	<i>European Space Agency</i> (engl.) Europäische Raumfahrtbehörde
FFM	<i>fat free mass</i> (engl.), fettfreie Körpermasse
g	Gramm
h	<i>hour</i> (engl.), Stunde
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bicarbonation
HDT	<i>head-down-tilt</i> (engl.), 6° Kopftieflage
IU	<i>International Units</i> (engl.), Internationale Einheiten
K <sup>+</sup>	Kaliumion
Kcal	Kilokalorien
KHCO <sub>3</sub>	Kaliumbicarbonat
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
MEDES	<i>Institut de Médecine et de Physiologie Spatiales</i> (franz.), Institut für Raumfahrtmedizin und Physiologie
mEq	milliäquivalent
Met	Methionin
Mg <sup>2+</sup>	Magnesiumion
mmol	millimol

MTBR-MNX	<i>mid-term-bed-rest medium duration nutrition and exercise</i> (engl.)
MW	Mittelwert
μl	mikroliter
n	Anzahl
N	Stickstoff
NAE	<i>net acid excretion</i> (engl.), Netto Säureausscheidung
NEAP	<i>net endogenous acid production</i> (engl.), endogene Netto Säureproduktion
NEX	<i>nutrition and exercise</i> (engl.), Nährstoffsupplementation und Training
NH <sub>3</sub>	Ammoniak
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ammoniumion
NM-BAPTA	Chromphor 5-nitro-5'-methyl-1,2-bis(o-aminophenoxy)ethan - N,N,N',N'-tetraacetische Säure
NTX	Aminoterminales Kollagen-Typ-I-Telopeptid
p	<i>probability</i> (engl.), Irrtumswahrscheinlichkeit
PBM	<i>peak bone mass</i> (engl.), maximale Knochendichte
PINP	Aminoterminales Propeptid des Typ 1 Prokollagens
PAL	<i>physical activity level</i> (engl.), physikalischer Aktivitätslevel
pH	<i>pondus hydrogeniie</i> (lat.), Wirksamkeit des Wasserstoffs
PRAL	<i>potential renal acid load</i> (engl.), potentielle renale Säurelast
PROPEI	<i>Proposal on protein and exercise interaction</i> (engl.)
REE	<i>resting energy expenditure</i> (engl.), Ruhe Nüchtern Umsatz
1-RM	<i>repetition maximum</i> (engl.), Wiederholungsmaximum
RVE	<i>resistive and vibration exercise</i> (engl.), Kraft- und Vibrationstraining
s.	siehe
SD	<i>standard deviation</i> (engl.), Standardabweichung
TA	<i>titrable acid</i> (engl.), titrierbare Säure
TEE	<i>total energy expenditure</i> (engl.), Gesamtenergieumsatz
TEF	<i>thermic effect of feeding</i> (engl.), nahrungsinduzierte Thermogenese
v.a.	vor allem
vgl.	vergleiche
WHO	<i>World Health Organisation</i> (engl.), Weltgesundheitsorganisation

# 1 Einleitung

Ein Drittel der adulten Weltbevölkerung ist körperlich inaktiv. Laut Lee et al. (Lee *et al.* (2012)) ist mangelnde Bewegung für mehr als 5,4 Millionen der weltweit insgesamt 57 Millionen Todesfälle im Jahre 2008 verantwortlich gewesen. Inaktivität verursacht demnach sechs Prozent der Fälle von koronarer Herzkrankheit, sieben Prozent des Typ-2-Diabetes sowie zehn Prozent der Brust- und Dickdarmkrebsfälle. Neben diesen Erkrankungen führt Inaktivität zu Verlusten von Muskel- und Knochenmasse, welche das Risiko für eine Sarkopenie und Osteoporose erhöhen. Als Hauptrisikogruppen für eine Osteoporose gelten postmenopausale Frauen sowie Frauen und Männer ab 65 Jahren mit geringer körperlicher Aktivität. In diesem Zusammenhang stellen Astronauten eine weitere vulnerable Gruppe dar, da sie aufgrund der fehlenden Schwerkraft im All unter Knochenschwund leiden. Klinische Studien nutzen Bettruhe als Modell, um immobilisationsbedingte Veränderungen hervorzurufen. Als Simulationsmodell v. a. für kardiovaskuläre Veränderungen in Schwerelosigkeit wird Bettruhe in 6° Kopftieflage herangezogen. Gleichzeitig eignet sich Bettruhe als gutes Modell um Maßnahmen zur Verringerung des Knochen- sowie Muskelabbaus zu untersuchen, da diese immobilisationsbedingten Veränderungen des muskuloskeletalen Systems an Biomarkern des Knochenstoffwechsels schon nach kurzer Zeit auftreten.

Aktuelle Forschungsergebnisse zeigen eine positive Wirkung von kombiniertem Kraft- und Vibrationstraining auf den Knochenstoffwechsel (Armbrecht *et al.* (2010); Belavy *et al.* (2011b); Wang *et al.* (2012)). Dennoch kann der immobilisationsbedingte Knochen- und Muskelabbau nicht vollständig verhindert werden. Neben körperlicher Aktivität spielt auch eine adäquate Ernährung für den Erhalt von Knochenstruktur eine wichtige Rolle. Hierbei rückt der Einfluss einer hohen Proteinzufuhr auf das muskuloskeletale System in den Fokus aktueller Forschung. Neueste Studien weisen auf eine Muskelproteinsynthese (MPS)-steigernde Wirkung durch Molkenprotein-Supplementation hin (Witard *et al.* (2014); Yang *et al.* (2012)). Diese Steigerung der MPS könnte auf lange Sicht, insbesondere in Kombination zu einem Krafttraining, einen Erhalt der Muskelmasse während Immobilität bewirken (Paul (2009); Tipton *et al.* (2004)). Gleichzeitig wird die Entstehung einer nahrungsbedingten latenten metabolischen Azidose bei einer erhöhten Proteinaufnahme von vornehmlich tierischem Protein diskutiert. Diese milde Verschiebung des pH-Wertes führt zwar zu Veränderungen des Säuren Basen-Status innerhalb des Normbereiches (Vormann & Goedecke (2006)), dennoch erfolgt eine Adaptation durch multiple Puffersysteme des Körpers, was möglicherweise eine erhöhte Knochenresorption sowie Calciumexkretion bedingt. Neueste Untersuchungen in Bettruhe

## Einleitung

zeigen, dass diese erhöhte Knochenresorption durch die Supplementation mit Kaliumbicarbonat ( $\text{KHCO}_3$ ) verhindert werden kann (Heer *et al.* (2013)).

In dieser Arbeit soll der Einfluss eines alleinigen Kraft- und Vibrationstrainings sowie in Kombination mit einer Nährstoffsupplementation von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  auf den Knochenstoffwechsel in 6° Kopftieflage untersucht werden. Aufbauend auf bisherigen Ergebnissen wird eine Senkung der immobilisationsbedingt erhöhten Knochenresorptionsrate durch beide Interventionen erwartet. Gleichzeitig wird eine Steigerung der Knochenformationsrate durch beide Interventionen vermutet. Zudem wird eine Kompensation der Säurelast durch die Zufuhr von  $\text{KHCO}_3$  sowie eine Senkung immobilisationsbedingter Proteinverluste durch das Kraft- und Vibrationstraining und die Supplementation mit Molkenprotein angenommen.

## 2 Hintergrund und Stand der Forschung

### 2.1 Immobilisationsbedingte Auswirkungen auf den Knochen

Osteoporose wird aus den griechischen Wörtern osteon (Knochen) und props (Pore; poröser Knochen) abgeleitet. Umgangssprachlich wird Osteoporose auch als Knochenschwund bezeichnet und stellt eine der häufigsten systemischen Stoffwechselerkrankungen des Knochens dar. Sie ist charakterisiert durch eine niedrige Knochenmasse und eine mikroarchitektonische Verschlechterung des Knochengewebes, mit einem konsekutiven Anstieg der Knochenfragilität und des Frakturrisikos (NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis (2001)). Weltweit ereignen sich 8,9 Millionen Osteoporose-bedingte Knochenbrüche pro Jahr, in Europa sind es 3,1 Millionen (Strom *et al.* (2011)). In Deutschland wird die Prävalenz für Osteoporose auf 6,3 Millionen geschätzt, davon sind 5,2 Mio. Frauen und 1,1 Millionen Männer betroffen (DVO Leitlinie Osteoporose (2014)). Obwohl die Osteoporose primär eine Erkrankung von Frauen in der Postmenopause ist, erkranken auch Männer (Wright (2006)). Neben vielen anderen Ursachen erhöht in Männern und Frauen eine mangelnde Bewegung und eine lebenslange Mangelernährung im Sinne einer alimentären Säurelast sowie einer unzureichenden Versorgung mit Calcium und Vitamin D das Risiko für Osteoporose (Kraut & Coburn (1994); New (2003)). Ein vorwiegend inaktiver Lebensstil und somit lang anhaltende geringe mechanische Belastung des Knochengewebes bedeuten laut Mechnostat-Theorie eine zu geringe Verformung des Knochens und werden folglich mit einer geringeren Knochenmasse assoziiert. Frost, HM (Frost (1960)) beschreibt in seinem Regelkreis des Mechanostaten diesen Zusammenhang zwischen fehlender mechanischer Belastung durch Inaktivität und dem damit einhergehenden Ungleichgewicht zwischen Knochenaufbau und -abbau. Dabei wird beim Modell des Mechanostaten der lineare Zusammenhang zwischen maximaler Muskelkraft und Knochenfestigkeit beschrieben. Dementsprechend bewirkt eine Steigerung der Muskelkraft / -masse eine stärkere Verformung des Knochens, was zu einem gesteigerten Knochenaufbau (Qin *et al.* (2010)) und somit Knochenwachstum (Modeling) führt. Hierfür ist ein bestimmter Schwellenwert an mechanischer Belastung notwendig der durch mechanische wie auch nichtmechanische Faktoren wie Hormone, genetische Faktoren und den Ernährungszustand beeinflusst wird. Im Umkehrschluss führt eine geringe Belastung des Knochens zu einer niedrigeren Verformung des Knochens, einhergehend mit einem erhöhten Knochenabbau (Remodeling) durch Osteoklasten (s. Abbildung 2.1).



## Hintergrund und Stand der Forschung

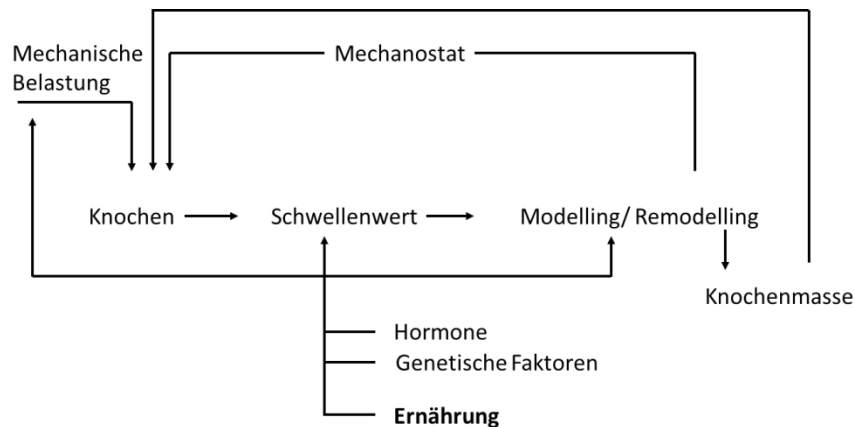


Abbildung 2.1: Das Mechanostaten Modell nach Frost et al. (Frost, HM 1987)

Die Bettruhe wird als das Modell zur Simulation der Adaptationsvorgänge in Schwerelosigkeit herangezogen und stellt eine extreme Form der Inaktivität dar. In Bettruhe kommt es zu einer verminderten mechanischen Belastung der unteren Extremitäten einhergehend mit einer Inaktivitätsatrophie der betroffenen Muskulatur. Bei langanhaltender Inaktivität kann dies zur Inaktivitätsosteoporose führen (Whedon (1984)). Gleichzeitig kommt es in Bettruhe zur Muskelatrophie, was den Verlust von Muskelmasse und –kraft und eine Abnahme der Belastbarkeit und des Faserdurchmessers des Muskels nach sich zieht (Coker & Wolfe (2012); English & Paddon-Jones (2010)). Diese Muskelatrophie geht mit einer verminderten Proteinbiosynthese im skeletalen Muskel sowie einem Anstieg der Proteolyse in den unteren Extremitäten einher. Diese Reduktion der MPS spiegelt sich in einer negativen Stickstoffbilanz wieder (s. Abbildung 2.2).

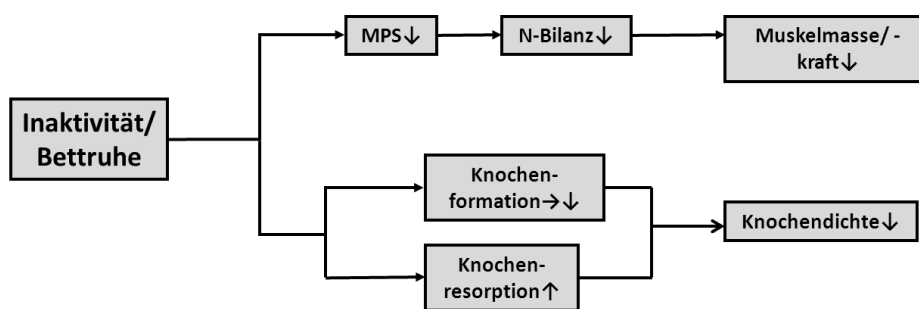


Abbildung 2.2: Einfluss von Inaktivität auf das muskuloskeletale System

Durch die fehlende mechanische Belastung des Knochens durch die Muskulatur kommt es zur Anpassung und als Folge zu einem verstärkten Knochenabbau und reduzierten oder gleichbleibenden –aufbau. Dieser lässt sich neben bildgebenden Verfahren deutlich schneller anhand von biochemischen Markern identifizieren. Als repräsentative Marker für die Aktivität

## Hintergrund und Stand der Forschung

der knochenaufbauenden Zellen (Osteoblasten) gelten das carboxy- und aminoterminal Propeptid des Typ-I-Kollagen (PICP / PINP) sowie die knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP), deren Konzentration im Blut gemessen werden können. BAP wird von den Osteoblasten während der Kollagenreifung synthetisiert und sezerniert und löst die Einlagerung von Calciumphosphatkristallen aus (Akesson (1995)). Während PICP und PINP Bruchstücke des Prokollagens darstellen. Durch das Eintreten in die Zirkulation reflektieren sie die osteoblastäre Kollagenneusynthese (Garnero & Delmas (1997); Christenson (1997)). Der Knochenabbau lässt sich durch Knochenresorptionsmarker erfassen, welche Rückschlüsse über die Knochenresorption und somit den Abbau durch Osteoklasten ermöglichen. Eine zentrale Rolle spielen hier Bruchstücke des Typs 1 Kollagens, die während des Abbaus des Typs 1 Kollagens als kleine C- und N-terminale Bruchstücke (Telopeptide) in die Zirkulation abgegeben werden. Diese gelangen über die Niere in den Harn und lassen sich als Typ 1 Kollagen C- bzw. N-terminales Crosslink Telopeptid (CTX / NTX) im Urin nachweisen. Als weiteres Abbauprodukt des Typ-1-Kollagens lassen sich Desoxypyridinolin-Crosslinks (DPD) als knochenspezifische Degradationsprodukte des Kollagenstoffwechsels im Urin nachweisen (Seibel & Woitge (1999); Schmolke (2001); Herrmann & Seibel (2008)). Serum- und Urin-Konzentrationen dieser Marker zeigen eine gute Korrelation mit dem Knochenumbau (Eriksen *et al.* (1995)).

Sowohl in Bettruhe als auch im All wurde eine Zunahme der Knochenresorption mittels der oben beschriebenen Marker festgestellt (Baecker *et al.* (2003); Heer *et al.* (2005); Morgan *et al.* (2012)), während die Knochenformation konstant blieb bzw. leicht vermindert wurde (LeBlanc *et al.* (2002); LeBlanc *et al.* (1995); Smith *et al.* (1999); Arnaud *et al.* (1992); Pedersen *et al.* (1995)). Hierbei konnte eine Steigerung der Knochenresorption bereits nach 48h in Bettruhe beobachtet werden (Baecker *et al.* (2003); Heer *et al.* (2005)). Die Entkopplung der Knochenformations- und -resorptionsprozesse konnte auch in Langzeit-Bettruhestudien und Langzeit-Weltraummissionen festgehalten werden und spiegelt sich in den Knochenresorptionsmarkern (Donaldson *et al.* (1970)) sowie der Abnahme der Knochendichte im kortikalen und trabekulären Knochen wieder (Belavy *et al.* (2011c); Rittweger *et al.* (2005); Rittweger *et al.* (2009); Lang *et al.* (2004)) (s. Abbildung 2.2).

Diese auch schon nach kurzer Zeit eintretenden Veränderungen im Knochenstoffwechsel in Bettruhe machen es zu einem guten Modell um mögliche Maßnahmen zur Verringerung des Knochenabbaus in Immobilität zu testen. Erkenntnisse daraus könnten für vulnerable Gruppen, wie Astronauten, Osteoporose-Patienten und einer alternden Bevölkerung, die meist ebenfalls eine geringere körperliche Aktivität und damit verminderte mechanische Belastung aufweist, von Relevanz sein. Neben medikamentösen Maßnahmen stehen hier Trainings- und

Ernährungsmaßnahmen im besonderen Fokus um dem durch Inaktivität hervorgerufenen Knochenabbau entgegenzuwirken.

## 2.2 Trainingsmaßnahmen

In Querschnittsstudien wurde belegt, dass Krafttraining zu einer Verbesserung der Knochendichte oder einem verbesserten Knochenumbau in Richtung einer erhöhten Formation führt (Nilsson & Westlin (1971); Granhed *et al.* (1987); Bell *et al.* (1988); Block *et al.* (1989); Menkes *et al.* (1993); Colletti *et al.* (1989)), wohingegen Ausdauertraining nur einen geringen oder keinen Effekt auf den Knochen aufweist (Frost (1997); Guillemant *et al.* (2004); Heinrich *et al.* (1990); Herrmann *et al.* (2007)). In Übereinstimmung mit Frost (Frost (1960)) zeigt sich, dass bei höherer Belastung des Knochens, Dehnung und Formänderung des Knochens ausgeprägter sind (Frost (1990); Lanyon (1990); Lanyon (1992); Rubin & Lanyon (1984)) sowie das Maß der maximalen Belastung einen größeren osteogenen Effekt hervorruft als die Anzahl der Wiederholungen (Lanyon (1987); Rubin & Lanyon (1987); Turner *et al.* (1994); Whalen *et al.* (1988)). Im letzten Jahrzehnt wurde gezeigt, dass eine Kombination von Ganzkörpervibrationstraining mit Krafttraining wirkungsvoll im Hinblick auf die Verbesserung der Balance und Verringerung des Fallrisikos bei Älteren ist (Bogaerts *et al.* (2007); Gusi *et al.* (2006); Rauch (2009); Verschueren *et al.* (2004)). Zudem konnte bei postmenopausalen Frauen eine Stärkung des Knochens durch Ganzkörpervibrationstraining aufgezeigt werden (Gusi *et al.* (2006); Verschueren *et al.* (2004)). In kürzlich veröffentlichten Ergebnissen in drei 56 bzw. 60 täglichen Bettruhestudien (Armbrecht *et al.* (2010); Belavy *et al.* (2011b); Belavy *et al.* (2011c); Wang *et al.* (2012)) führte Kraft- und Vibrationstraining zu einer Senkung der immobilisationsbedingten Muskelatrophie (Salanova *et al.* (2014)) und zu einer Steigerung des Knochenumbaus, hingehend zu einer Verbesserung der Knochenformationsrate (Armbrecht *et al.* (2010); Wang *et al.* (2012)) einhergehend mit einer Senkung der Knochenresorption (Armbrecht *et al.* (2010)) (s. Abbildung 2.3). Des Weiteren wurde eine Verringerung des Knochendichteabbaus im appendikulären Skelett der unteren Extremitäten beobachtet (Wang *et al.* (2012); Belavy *et al.* (2011b); Belavy *et al.* (2011c)).

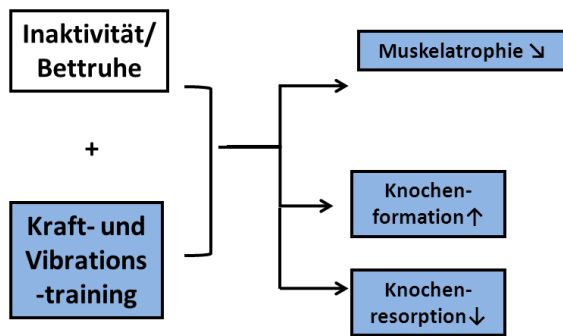


Abbildung 2.3: Einfluss eines Kraft- und Vibrationstrainings auf das muskuloskeletale System in Inaktivität

Jedoch existiert zum jetzigen Zeitpunkt keine Trainingsform die den erhöhten Knochenabbau während der Bettruhe bzw. die verminderte Knochendichte durch eine länger anhaltende Immobilität vollständig verhindern kann. Vielmehr zeigen aktuelle Ergebnisse aus Langzeit-Weltraumflügen, dass eher eine Kombination von Training und adäquater Ernährung die Knochenmasse erhalten kann. So führte die Kombination eines Krafttrainings in Kombination mit einer ausreichenden Versorgung mit Vitamin D, Protein und Energie, zum Erhalt der Knochenmasse während einer Langzeitmission (Smith *et al.* (2012)). Infolgedessen sind weitere Maßnahmen, wie eine Optimierung der Nährstoffzufuhr, maßgebend um den immobilisationsbedingten Knochenabbau zu minimieren.

## 2.3 Ernährungsmaßnahmen

Neben den Hauptakteuren Calcium (Ensrud *et al.* (2000); Reid *et al.* (1995)) und Vitamin D (Boonen *et al.* (2006); Dawson-Hughes *et al.* (1997); Winzenberg *et al.* (2011)) haben auch andere Nährstoffe, wie Vitamin K (Kim *et al.* (2010)), Vitamin C (Finck *et al.* (2014)), Zink (Hyun *et al.* (2004)) und Natrium (Frings-Meuthen *et al.* (2011); Park *et al.* (2014); Teucher *et al.* (2008)) sowie die Protein- und Energiezufuhr, das Körpergewicht (KG) und die -komposition (Waugh *et al.* (2009)) einen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel (Bonjour *et al.* (1994)). Ein weiterer Einflussfaktor auf die Knochengesundheit und damit die Prävention der Osteoporose stellt die Versorgung mit Nahrungsprotein dar. In dieser Arbeit wird der Einfluss der Proteinzufuhr bei adäquater Versorgung mit anderen relevanten Nährstoffen betrachtet, daher wird im Folgenden der Einfluss von Protein auf das muskuloskeletale System näher erläutert.

### Protein

Etwa 15-17% der Körpermasse eines Erwachsenen bestehen aus Proteinen, wobei circa die Hälfte Strukturproteine der Skelettmuskulatur darstellen. Im Knochen stellen etwa 98 Prozent des gesamten Knochenproteins Kollagen Typ 1 dar. Basierend auf Stickstoffbilanzstudien liegt die empfohlene Zufuhr für Protein derzeit bei 0,8 g pro kg KG pro Tag (DGE *et al.* (2015); World Health Organization (2011)). Eine Unterversorgung an Protein (unter 0,8 g/d) geht mit einer Verzögerung des Skelettwachstum im Kindesalter sowie einer verminderten Knochenmasse (Hannan *et al.* (2000)) und einer geringeren maximalen Knochendichte, *peak bone mass* (PBM), einher (GARN *et al.* (1964); Hannan *et al.* (2000)). Des Weiteren korreliert eine geringe Proteinzufuhr (< 0,8 g/d) mit einer negativen Stickstoffbilanz und einem Verlust an Magermasse (Calloway (1975); Garza *et al.* (1977); Garza *et al.* (1978)).

Der Referenzwert von 0,8 g/kg KG pro Tag wird allerdings zunehmend diskutiert, da neuere Berechnungen bei gesunden Männern mittels der Indikator-Aminosäure-Oxidations-Methode einen 41% höheren Bedarf an Protein von 0,93 und 1,2 g/kg KG pro Tag aufzeigen (Humayun *et al.* (2007)). Vor allem für ältere Menschen über 60 Jahren scheint aufgrund der Sarkopenie und der damit einhergehenden altersbedingten Abnahme des Proteingehalts sowie dem altersbedingten Risiko einer Osteoporose, eine höhere Zufuhr an Protein sinnvoll (Bauer *et al.* (2013); Campbell *et al.* (1994); Campbell *et al.* (2001); Deutz *et al.* (2014); Rizzoli *et al.* (2014)). Die altersbedingte Sarkopenie ähnelt der Muskelatrophie bei geringer körperliche Aktivität und in Bettruhe (Walrand *et al.* (2011)). Zentral gekennzeichnet sind beide durch die Abnahme des Proteingehalts (Bajotto & Shimomura (2006)) und gleichzeitiger Abnahme der Kraft, Belastbarkeit und Faserdurchmesser des Muskels (Jackman & Kandarian (2004)). Dies legt einen erhöhten Bedarf an Protein in Inaktivität nahe. Umfassende Informationen hierzu liegen in Form von Review-Artikeln vor (Stein & Blanc (2011); Biolo *et al.* (2005)).

#### 2.3.1 Einfluss einer erhöhten Proteinzufuhr auf das muskuloskeletale System

Protektive Effekte einer höheren Proteinzufuhr als die empfohlenen 0,8 g pro Tag wurden an gesunden, jungen sowie bei älteren (> 50 Jahre) Erwachsenen nachgewiesen (Beasley *et al.* (2013); Gaffney-Stomberg *et al.* (2009); Houston *et al.* (2008); Kurpad & Vaz (2000); Paddon-Jones *et al.* (2004)), während eine niedrige Protein-, wie auch Energiezufuhr das Auftreten einer Sarkopenie beschleunigt (Garza *et al.* (1977); Garza *et al.* (1978); Thalacker-Mercer *et al.* (2007)). Diese Ergebnisse untermauern den erhöhten Bedarf an Protein insbesondere in einer alternden Bevölkerung und dessen protektiven Effekt für die Entwicklung und das Fortschreiten einer altersbedingten Sarkopenie. Zusätzlich wird eine potenzierte adaptive Antwort des Muskels auf Krafttraining durch die Supplementation mit Protein ermöglicht

(Cermak *et al.* (2012); Daly *et al.* (2014)). Dabei wird durch eine erhöhte Proteinzufuhr im Alter vornehmlich die reduzierte MPS kompensiert. Hierbei spielt die Aminosäuren Zusammensetzung eine tragende Rolle (Tang & Phillips (2009); Tipton *et al.* (1999)). In diesem Zusammenhang ist besonders Molkenprotein zu beachten, welches einen hohen Anteil an unentbehrlichen und verzweigtkettigen Aminosäuren (BCAA, *branched chain amino acids*), insbesondere an Leucin besitzt und eine rasche Digestion- und Absorptionskinetik im Vergleich zu anderen Proteinen aufweist (Boirie *et al.* (1997); Phillips *et al.* (2009)). Durch den hohen Gehalt an unentbehrlichen Aminosäuren hat Molkenprotein zudem eine hohe biologische Wertigkeit, was sich in dem hohen PDCAAS-Wert (PDCAAS, *Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score*) von 115 zeigt (Miller *et al.* (2006)). Die Stimulation der MPS durch die Gabe von 10 bis 40 g Molkenprotein konnte in zahlreichen Kurzzeit-Studien (Paddon-Jones *et al.* (2006); Pennings *et al.* (2011); Burd *et al.* (2012); Yang *et al.* (2012); Witard *et al.* (2014)) gezeigt werden. Hierbei wird die Aktivierung der mTOR-Signalkaskade und somit Regulation der Translation der MPS als Mechanismus für Molkenprotein beschrieben (Farnfield *et al.* (2009)). Darüber hinaus zeigen Langzeitstudien eine größere Steigerung der Magermasse im Vergleich zu Casein und/oder Kohlenhydraten nach neun Monaten und 10 Wochen (Cribb *et al.* (2006)).

Ähnlich wie im Alterungsprozess ist bei Menschen mit einer geringen körperlichen Aktivität sowie in Bettruhe, die MPS reduziert, was zu einer Abnahme von Muskelkraft, Belastbarkeit und Faserdurchmesser führt (Coker & Wolfe (2012); English & Paddon-Jones (2010)). Wie bereits beschrieben ähnelt die immobilisationsbedingte Muskelatrophie der altersbedingten Sarkopenie (Dillon *et al.* (2009); Stuart *et al.* (1990)). Speziell bei solch vulnerablen Gruppen ist eine adäquate Nährstoffzufuhr essenziell und die Supplementation mit Molkenprotein könnte so dem Muskelabbau entgegenwirken. Gleichzeitig könnte dies durch den Erhalt bzw. die Steigerung der mechanischen Belastung zur Verformung des Knochens beitragen.

### **2.3.2 Auswirkungen einer erhöhten Proteinzufuhr auf den Knochenstoffwechsel**

Das menschliche Skelett besteht mit seinen 206 Knochen zu 50% aus Protein. Folglich ist eine adäquate Zufuhr an Protein unbestritten essenziell für den Knochenumbau und Formation. Auf der einen Seite zeigt die Metaanalyse von Darling *et al.* (Darling *et al.* (2009)) vorwiegend positive Effekte einer durchschnittlichen Proteinzufuhr von ~1,0 g/kg/d, während auf der anderen Seite eine negative Wirkung auf den Knochen bei einer Proteinzufuhr über 0,8 g/kg/d von vornehmlich tierischem Protein kontrovers diskutiert wird (Kerstetter *et al.* (2011); Mangano *et al.* (2014); Pedersen *et al.* (2013)). Die Metaanalyse von Darling *et al.* 2009

(Darling *et al.* (2009)) untersuchte hierbei unter anderem den Zusammenhang zwischen einer Proteinzufuhr von 0,35 bis 1,35 g pro kg KG und der Knochenmineraldichte (*bone mineral density*, BMD), in Frauen und Männern. 15 Querschnittserhebungen zeigten hier eine positive Korrelation zwischen Proteinzufuhr und BMD. 18 Studien zeigten keine Korrelation auf und in einer Studie wurde sogar eine Senkung der BMD durch eine Zufuhr von 1 g pro kg KG pro Tag nachgewiesen. Insgesamt wurde somit eine positive Korrelation zwischen normaler bzw. leicht erhöhter Proteinzufuhr und Knochendichte gezeigt. Hierbei ist kritisch anzumerken, dass die Aktivitätslevel der Probanden vor und während der Studie in den hier aufgeführten Studien nicht berücksichtigt wurden. Als Hauptmediator für die präventive Wirkung einer erhöhten Proteinzufuhr gegen den Knochenverlust wird vor allem die Steigerung des insulinähnlichen Wachstumsfaktors-1 (IGF-1) diskutiert (Hunt *et al.* (2009); Dawson-Hughes *et al.* (2004); Bonjour *et al.* (1997); Yakar *et al.* (2002)).

Im Gegensatz dazu führte eine deutlich erhöhte Proteinzufuhr von 1,7 bzw. 2,1 g/kg KG zur Steigerung der Calciumexkretion (Kerstetter *et al.* (2005); Schuette *et al.* (1980)). Als Mechanismen werden eine erhöhte Glomeruläre Filtrationsrate (Kerstetter *et al.* (1998); Schuette *et al.* (1980); Schwingshackl & Hoffmann (2014)) sowie eine verringerte tubuläre Calciumreabsorption (Schuette *et al.* (1980); Kerstetter *et al.* (1998); Lemann, Jr. (1999); Lemann *et al.* (1967)) und erhöhte intestinale Ca-Absorption (Hunt *et al.* (2009); Kerstetter *et al.* (2005)) diskutiert. Dabei scheint vor allem die Art des zugeführten Proteins entscheidend für dessen Wirkung auf den Knochen (Abelow *et al.* (1992); Frassetto *et al.* (2000); Meyer *et al.* (1997); Sellmeyer *et al.* (2001); Weikert *et al.* (2005)) und das Auftreten einer Hyperkalziurie (Itoh *et al.* (1998); Schuette *et al.* (1980); Adeva & Souto (2011); Cao *et al.* (2011)). Der hohe Gehalt an schwefelhaltigen Aminosäuren in tierischem Protein führt zu einer Freisetzung von Protonen und Sulfationen und somit zu einer erhöhten Säurelast (Rehner & Daniel (2010)). So konnte durchschnittlich für 50 g tierisches Protein ein Anstieg der Calciumexkretion im 24h- Urin von ca. 1,6 bis 2 mmol aufgezeigt werden (Kerstetter *et al.* (2003); Lemann, Jr. (1999); Maurer *et al.* (2003)). Diese Säurelast könnte dann zum Ablösen von Mineralstoffen der Knochenoberfläche führen.

Ferner scheint die Versorgung mit Calcium die Wirkung einer Proteinzufuhr auf den Knochen zu beeinflussen. In Anlehnung an vorherige Studien (Frassetto *et al.* (2000); Meyer *et al.* (1997); Sellmeyer *et al.* (2001); Weikert *et al.* (2005)) zeigten Sahni *et al.* (Sahni *et al.* (2010)) in der Framingham Osteoporose Studie, einer Querschnittsstudie, ein erhöhtes Risiko an Frakturen in der Gruppe mit der höchsten tierischen Proteinaufnahme (Median 68 g/d). Dabei betrug die durchschnittliche Proteinaufnahme 0,91 und 1,08 g/kg/d für Männer und Frauen. Allerdings konnte dieses erhöhte Frakturrisiko nur in der Gruppe mit einer Calciumaufnahme

## Hintergrund und Stand der Forschung

unter 800 mg pro Tag nachgewiesen werden. Die Gruppe mit einer Calciumzufuhr von über 800 mg pro Tag und der höchsten tierischen Proteinaufnahme wies hingegen ein um 85% gesenktes Risiko an Frakturen auf. Hierbei wurden 1752 Männer und 1972 Frauen mit einem Altersdurchschnitt von 55 Jahren über 12 Jahre untersucht. Demzufolge könnte eine ausreichende Versorgung mit Calcium eine antikatabole Wirkung haben und die mögliche knochenabbauende Wirkung des tierischen Proteins kompensieren. Demgegenüber stehen Ergebnisse aus prospektiven, standardisierten, kontrollierten Bettruhestudien über mehr als 60 Tage die eine Steigerung der Knochenresorptionsmarker durch eine erhöhte Proteinzufuhr, trotz adäquater Calciumzufuhr, belegen (Zwart *et al.* (2005); Heer (2015)). Infolgedessen wird vor allem die hohe Aufnahme an tierischen Protein und somit hohe Aufnahme an schwefelhaltigen Aminosäuren in Kombination mit einer geringen Zufuhr an pflanzlichen Produkten und alkalischen Mineralsalzen als Risikofaktor für eine Osteoporose und Knochenfrakturen (New (2002); Cao & Nielsen (2010)) und die Entstehung einer nahrungsbedingten leichtgradigen, latenten metabolischen Azidose, diskutiert. Dabei führt eine hohe Zufuhr an tierischem Protein aufgrund milder, proteininduzierter Veränderungen des Säuren-Basen-Status zu einer latenten metabolischen Azidose (Remer & Manz (1994)).

### *Nahrungsbedingte latente metabolische Azidose*

Als latente metabolische Azidose versteht man eine geringfügige Verringerung des pH-Wertes im Blut innerhalb des Normbereiches von  $7,40 \pm 0,05$  mit einer gleichzeitig signifikanten Reduktion der Hydrogencarbonat-Konzentration (Pizzorno *et al.* (2010); Vormann & Goedecke (2006)). Einflussfaktoren für die Entstehung einer latenten metabolischen Azidose sind zum einen die Ernährungsweise, welche die Entstehung einer latenten Azidose durch eine erhöhte Säurelast, sowie einem hohen Anteil an Kochsalz (Frings-Meuthen *et al.* (2008)), fördern kann und zum Anderen der Alterungsprozess, mit einer konsequenten Abnahme der Nierenfunktion mit zunehmenden Alter (Frassetto *et al.* (2001); Frassetto *et al.* (1996)). Kommt es zu einer Reduktion des pH-Wertes im Blut, stellt auch der Knochen ein wichtiges Puffersystem zur Kompensation dar, wie *in vitro* und *in vivo* Studien gezeigt haben (Arnett (2008); Burton (1992); Bushinsky *et al.* (1993); Bushinsky (1996); Bushinsky *et al.* (1999); Bushinsky (2001); Bushinsky & Lechleider (1987); Gasser *et al.* (2014); Krieger *et al.* (2003); Krieger *et al.* (2004); Lemann, Jr. *et al.* (2003); Meghji *et al.* (2001)). Dabei führt die Reduktion des pH-Werts zu Ionenaustauschprozessen und dem Ablösen von Mineralstoffen (Calciumcarbonat, Calciumphosphat) der Knochenoberfläche. Gefolgt von einer gesteigerten Osteoklasten- und einer gehemmten Osteoblasten-Aktivität, um eine systemische Azidose zu korrigieren



## Hintergrund und Stand der Forschung

(Brandao-Burch *et al.* (2005); Bushinsky (2001); Gasser *et al.* (2014)). Selbst kleinste pH-Wert Erniedrigungen im physiologischen Bereich verursachen eine Verdoppelung der Knochenresorption *in vitro* (Arnett & Spowage (1996); Bushinsky (1996); Pizzorno *et al.* (2010)). Auslöser hierfür ist eine Bindung von Protonen an Protonen-*sensing* Rezeptoren am Osteoblasten und die dadurch hervorgerufene, direkte Aktivierung der Osteoklasten (Arnett (2008); Frick *et al.* (2009)).

In diesem Zusammenhang wird häufig die „Acid-Ash-Hypothese“ genannt, welche den Abbau von Knochen als adaptive Antwort auf eine erhöhte Säurelast und Abnahme der Pufferkapazität beschreibt (Wachman & Bernstein (1968)). Laut Acid-ash-Hypothese entsteht eine erhöhte Säurelast durch den hohen Säuregehalt der westlichen Ernährungsweise mit viel Fleisch, Käse, Getreide und anderen säurebildenden Lebensmitteln bei einer gleichzeitig verminderten Zufuhr von basischen Mineralstoffen (wie Kalium, Magnesium, Kalzium) (Barzel (1969); Frassetto *et al.* (2008); Manz (2001); Tucker *et al.* (2001)). Dabei enthält eine typisch „westliche“ Ernährungsweise üblicherweise 50-100 mEq Säure pro Tag, was eine positive endogene Säurennettoproduktion (NEAP, *net endogenous acid production*, mEq/d) nach sich zieht (Sebastian *et al.* (2002); Vormann & Remer (2008)). Die NEAP stellt ein Maß für das Verhältnis aus endogener Säureproduktion und Basenverlust dar und wird im gesunden Organismus über die Niere eliminiert (Gluck (1998); Remer (2001)). Im *steady-state* Zustand ist die renale Netto-Säureausscheidung ein zuverlässiges quantitatives Maß der NEAP (Kurtz *et al.* (1983)) und wird neben der Blutgasanalyse als Parameter zur Bestimmung des systemischen Säuren-Basen-Status bestimmt. Zudem unterstreichen epidemiologische Studien einen negativen Zusammenhang zwischen NEAP und Knochengesundheit (Wynn *et al.* (2008); Welch *et al.* (2007); New *et al.* (2004); Macdonald *et al.* (2005); Alexy *et al.* (2005)), wenngleich neuste Untersuchungen diesen Zusammenhang nicht bestätigen (Mangano *et al.* (2014); Jia *et al.* (2015)). Bei chronisch hoher Proteinzufuhr über Jahre ohne entsprechende Basenvorläufer könnten so eine erhöhte Säurelast der Diät, und die damit verbundene ernährungsbedingte latente metabolische Azidose, das Risiko und die Entstehung einer Osteoporose verstärken (Kraut & Coburn (1994); New (2003)).

Auf der anderen Seite widersprechen Ergebnisse aus Übersichtsarbeiten und Metaanalysen der Theorie der Acid-Ash Hypothese (Bonjour (2005); Bonjour (2011); Fenton *et al.* (2009); Kerstetter *et al.* (2011)) und diese wurde im letzten Jahrzehnt zunehmend kritisch diskutiert (Bonjour (2013)). Die Metaanalyse von Fenton *et al.* (Fenton *et al.* (2009)) konnte keinen Zusammenhang zwischen einer Nahrungs-bedingten erhöhten Säureausscheidung im Urin (NAE, *net acid excretion*) und dem Knochenresorptionsmarker NTX feststellen. Des Weiteren

hatten der pH-Wert im Urin oder NAE keinen Einfluss auf die Frakturrate oder den Verlust an BMD. Zu dieser Metaanalyse ist allerdings kritisch anzumerken, dass lediglich nur Studien mit einer adäquaten ( $> 0,7 \text{ g/kg/d}$ ) bzw. erhöhten ( $< 1,3 \text{ g/kg/d}$ ), jedoch keiner inadäquaten Proteinzufuhr berücksichtigt wurden.

Zusammenfassend scheint vor allem das Verhältnis von Proteinzufuhr zu aufgenommener Menge an Basenvorläufern (Frassetto *et al.* (2000); Sellmeyer *et al.* (2001); Zwart *et al.* (2004)) sowie die Gesamt-Säurelast der Nahrung (Remer & Manz (1994)) und die Versorgung mit Calcium (Mangano *et al.* (2014); Zhong *et al.* (2009)) und Vitamin D (Dargent-Molina *et al.* (2008); Dawson-Hughes & Harris (2002)) ausschlaggebend zu sein für die Wirkung von einer erhöhten Proteinzufuhr auf den Knochen und das Risiko einer nahrungsbedingten latenten metabolischen Azidose. Eine erhöhte Proteinzufuhr könnte demzufolge in Inaktivität oder bei älteren Menschen, bedingt durch die Zufuhr an BCAA, die MPS steigern und zu einem Erhalt bzw. Wachstum der Muskelmasse führen. Auf lange Sicht könnte dies zu einer stärkeren Verformung des Knochens durch die erhöhte mechanische Belastung und folglich einer verstärkten Knochenformation führen. Gleichzeitig führt die Metabolisierung der schwefelhaltigen Aminosäuren zu einer erhöhten endogenen Säurelast und könnte somit die Entstehung einer latenten metabolischen Azidose, einhergehend mit einer gesteigerten Knochenresorption, steigern (s. Abbildung 2.4).

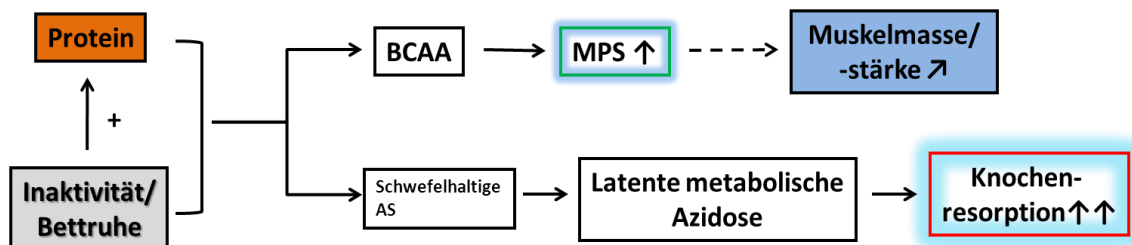


Abbildung 2.4: Effekte einer erhöhten Proteinzufuhr auf das muskuloskeletale System in Bettruhe

### 2.3.3 Alkalisalze und deren Effekte auf das muskuloskeletale System

Entscheidend für die Kompensation der Säurelast und Normalisierung der ernährungsbedingten latenten metabolischen Azidose ist folglich eine erhöhte Zufuhr an Obst und Gemüse sowie anderen basischen Komponenten, wie alkalische Mineralsalze. Eine prospektive Querschnittsstudie in 1056 prä- bzw. perimenopausalen Frauen im Alter von 45-54 Jahren zeigt eine positive Korrelation zwischen geringer endogener NEAP und skeletaler Integrität auf (New *et al.* (2004)). Hierbei führte die niedrigste NEAP oder höchste Aufnahme

an Basen-produzierenden Lebensmitteln, wie Obst und Gemüse zu einer höheren BMD und größeren Knochenmasse. Darüber hinaus war eine geringere NEAP mit einer signifikant niedrigeren Exkretion an knochenabbauenden Markern verbunden (Macdonald *et al.* (2005); New *et al.* (2004)). Des Weiteren werden eine Neutralisation der endogenen Säurelast sowie eine Senkung der knochenabbauenden Marker (Dawson-Hughes *et al.* (2009); Maurer *et al.* (2003); Sebastian *et al.* (1994)) und Verbesserung der Knochendichte und Mikroarchitektur (Jehle *et al.* (2013)) durch die Supplementation mit Alkalisalzen beschrieben. Ferner konnten Dawson-Hughes *et al.* (Burckhardt *et al.* (2010)) in ihrer randomisierten, kontrollierten Doppelblindstudie an postmenopausalen Frauen eine signifikant niedrigere Stickstoffausscheidung und Spitzenleistung der Beinextensorkraft durch die Supplementation mit  $\text{KHCO}_3$  aufzeigen. Demgegenüber steht eine randomisierte, Placebo kontrollierte Studie von Macdonald *et al.* (Macdonald *et al.* (2008)) die keine signifikante Reduktion der knochenabbauenden Marker und des Knochenmineraldichteverlusts an Wirbelsäule und Hüfte, durch die Supplementation von 55,5 mEq Kaliumcitrat pro Tag in 49-54 jährigen Frauen, aufzeigen. Dies ist möglicherweise durch eine fehlende Supplementation mit Calcium und Vitamin D zu erklären, wenngleich die Calciumzufuhr von durchschnittlich ca. 844 mg/d als adäquat erachtet werden kann. Die Vitamin D Level wurden hingegen nicht erhoben. In der Studie von Dawson-Hughes *et al.* (Burckhardt *et al.* (2010)) erfolgte so im Vergleich eine Supplementierung mit täglich 525 IE Vitamin  $\text{D}_3$ . Zu dem erfolgte keine standardisierte Ernährung während und vor der Studie von Macdonald *et al.*, so dass die Teilnehmerinnen mit vergleichsweise niedriger NEAP und somit endogener Säurennettoproduktion von durchschnittlich 41 mEq/d die Studie begonnen.

Zusammenfassend begünstigt eine geringe körperliche Aktivität, wie in Bettruhe, sowie eine hohe Säurebelastung, durch eine erhöhte Aufnahme von tierischem Protein kombiniert mit einer westlichen Ernährungsweise, die Entstehung und Entwicklung einer Osteoporose und den damit einhergehenden Knochenabbau. Andererseits steigert eine erhöhte Proteinzufuhr und hier vor allem von Molkenprotein, die MPS und somit möglicherweise auch die Muskelmasse. Die Kombination einer erhöhten Proteinzufuhr mit körperlichem Training, vornehmlich Krafttraining, könnte durch die erhöhte mechanische Belastung und durch die Stimulation der MPS, zu einer Steigerung des Knochenumbaus, hingehend zu einer erhöhten Knochenformation und dem Aufbau an Muskelmasse führen. Gleichzeitig könnte eine erhöhte Alkalizufuhr über die Ernährung bzw. eine Supplementation mit  $\text{KHCO}_3$  Knochen protektiv wirken, indem es den im Alter überwiegenden Knochenabbau vermindert und das Frakturrisiko reduziert (s. Abbildung 2.5).

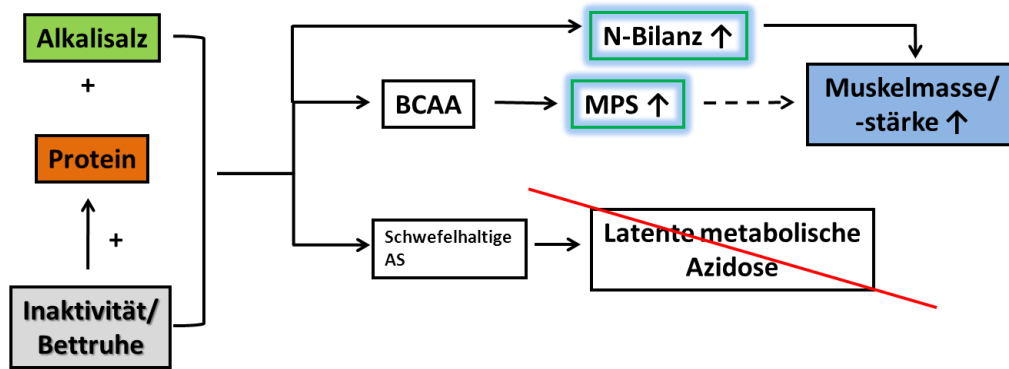


Abbildung 2.5: Auswirkungen einer erhöhten Proteinzufuhr kombiniert mit einem Alkalisalz auf das muskuloskeletale System

Somit ergeben sich für die vorliegende Arbeit folgende Ziele und Fragestellungen:

## 2.4 Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung des Einflusses einer Nährstoffsupplementation in Form von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  in Kombination mit einem Kraft- und Vibrationstraining auf den durch Bettruhe induzierten Knochenabbau bei gesunden Männern.

Daraus ergeben sich folgende Hypothesen:

- 1) Die Kombination von Kraft- und Vibrationstraining mit Molkenprotein- und Kaliumbicarbonatgabe führt zu einer gesteigerten Knochenformation.
- 2) Eine Kombination von Kraft- und Vibrationstraining mit Molkenprotein- / Kaliumbicarbonatsupplementation kompensiert die durch Bettruhe hervorgerufene gesteigerte Knochenresorption.

### 3 Material und Methoden

Die im Folgenden beschriebene Interventionsstudie (**MTBR-MNX**, *mid-term-bed-rest medium duration nutrition and exercise*) ist eine streng kontrollierte metabolische Bilanzstudie, die stationär im Stoffwechsellabor des Instituts für Raumfahrtmedizin und Physiologie (MEDES, *Institut de Médecine et de Physiologie Spatiales*) in Toulouse durchgeführt wurde. Sie stellt ein Experiment im Rahmen eines international durchgeführten und von der Europäischen (ESA), der Deutschen (DLR) und Französischen (CNES) Raumfahrtbehörde geförderten Projektes dar.

Die **MTBR-MNX-Studie** wurde in drei Kampagnen von November bis Januar 2012, April bis Juni 2013 und September bis November 2013, durchgeführt.

In der MTBR-MNX-Studie wurde von verschiedenen Experimentatoren der Einfluss einer Nährstoffsupplementation (Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$ ) in Kombination mit einem Kraft- und Ganzkörpervibrationstraining während Bettruhe in 6° Kopftieflage (*head-down-tilt bed rest*, HDT) auf das muskuloskeletale-, endotheliale- und kardiovaskuläre System, die pro- und antikoagulatorischen Effekte, das periphere Nervensystem, den Glucose- und Insulinstoffwechsel, die glomeruläre Filtrationsrate sowie den Säure-Basen-Status und den Stickstoffhaushalt untersucht. Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf das Experiment zur Auswirkung der Interventionen auf den Knochenstoffwechsel und den Säuren-Basen-Status sowie den Stickstoffhaushalt. Dieses Experiment ist neben der Untersuchung des Glucose- und Insulinstoffwechsels und des muskulären Systems Teil des PROPEI- Experiments (**PROPEI**, **P**roposal on **p**rotein and **e**xercise interaction). PROPEI wurde sowohl von der Ethikkommission der Rheinischen Friedrich-Wilhelm Universität als auch von der französischen Ethikkommission positiv begutachtet und für ethisch unbedenklich befunden.

#### 3.1 Studiendesign

Diese randomisierte kontrollierte Studie im randomisierten *cross-over* Design besteht aus drei Studienkampagnen à 34 Tagen (s. Abbildung 3.1). Hierfür wurden die Probanden stationär im Stoffwechsellabor des Instituts für Raumfahrtmedizin und Physiologie aufgenommen. Die Kampagnen unterteilten sich in eine siebentägige Adaptationsphase mit entsprechender Datenerhebung (Studientag -7 bis -1), eine 21-tägige Interventionsphase in HDT (Studientag 1 bis 21), gefolgt von einer sechstägigen Erholungsphase (Studientag R1 bis R6, *recovery*, R). Während der ambulanten Adaptations- und Erholungsphase konnten sich die Probanden

im Labor frei bewegen, sportliche Aktivitäten waren jedoch nicht erlaubt. Die Interventionsphase unterteilte sich in eine Trainingskampagne mit Kraft- und Vibrationstraining sowie das Training kombiniert mit der Supplementation von Molkenprotein (0,6 g/kg Körpergewicht (KG) pro Tag (d)) und  $\text{KHCO}_3$  (90 mmol/d). Die Kontrollkampagne (CON, *CON*trol) wurde ohne Supplementation und Training durchgeführt (s. Abbildung 3.1). Zwischen den drei Kampagnen lag eine Auswaschphase von 126 Tagen. Im Folgenden werden für die beiden Interventionsphasen die Abkürzungen NEX (*Nutrition AND EX*ercise) für die Kampagne die sowohl das Training als auch die Supplementation durchlief und RVE (*Resistive Vibration Exercise*), für die Kampagne die nur das Training durchlief, verwendet. Die Zuordnung zur Reihenfolge welche Intervention (CON, RVE, NEX) die einzelnen Probanden in der ersten, zweiten bzw. dritten Kampagne erhielten, erfolgte zufällig.

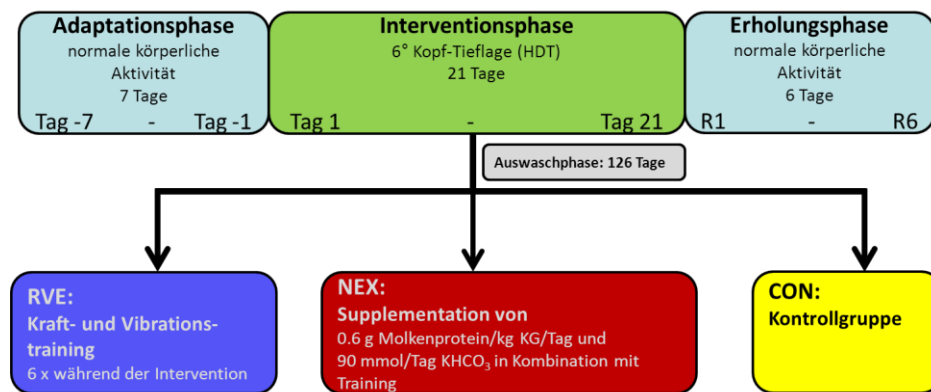


Abbildung 3.1: Studiendesign der MTBR-MNX-Studie

Während der Interventionsphase lagen die Probanden 24h jeden Tag in 6° Kopftieflage. Hierfür ist das Bett um 6° mit dem Kopfende nach unten (6° Kopftieflage) geneigt (s. Abbildung 3.2). Diese Lage dient, zusätzlich zur gewünschten Immobilisation, der Simulation von schwerelosigkeitsbedingten Veränderungen im Flüssigkeitshaushalt und somit einer Verschiebung von Flüssigkeiten in die oberen Extremitäten. Alltags- und Freizeitbeschäftigungen wie essen, duschen, wiegen des Probanden, Urin- und Fäzes Abgabe, lesen, fernsehen fand in Kopftieflage statt. Beim Essen und Waschen durften die Probanden den Kopf auf den Ellbogen aufstützen oder sich auf den Bauch drehen.

Zur Kontrolle der Bettruhe-Standards wurden die Probanden per Videokamera überwacht und der 6° Winkel zweimal pro Tag kontrolliert. Die Aufzeichnungen wurden nur im Verdachtsfall (abweichende Ergebnisse, Beobachtungen) überprüft.

## Material und Methoden

Es wurde ein konstanter Tag-, Nachtrhythmus eingehalten (7-8 Stunden Schlaf pro Nacht). Um den Probanden weiterhin die Pflege ihrer sozialen Kontakte zu ermöglichen, wurde ihnen ein eigenes Telefon sowie eine Internetverbindung zur Verfügung gestellt.

Jeden dritten Tag bekamen die Probanden physiotherapeutische Anwendungen ohne Muskelaufbautraining. Des Weiteren wurden die Probanden aufgefordert ihre Liegeposition regelmäßig zu wechseln um ein Wundliegen zu vermeiden.



Abbildung 3.2: Modell der 6° Kopftieflage. © DLR

### 3.2 Metabolisches Labor

Das klinische Forschungsinstitut MEDES befindet sich innerhalb des Toulouser Rangueil Krankenhaus. Das Stoffwechsellabor umfasst sechs Doppel-Schlafzimmer (1-6), zwei Badezimmer, einen Aufenthaltsraum mit Essbereich (15), eine metabolische Bilanzküche zur Verpflegung der Probanden (16), zwei psychomotorische Test-Laborräume (7, 8), Krankenstationen (10-11) und biochemische Laborräume (9-14) sowie Untersuchungs- und Lagerräume (17-21) (s. Abbildung 3.3).

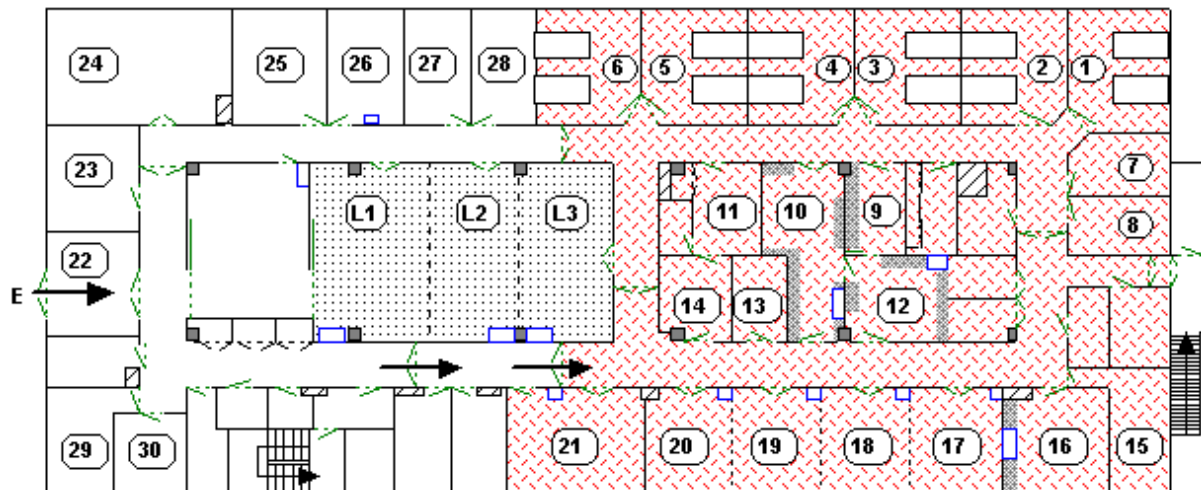


Abbildung 3.3: Grundriss und Außenansicht des klinischen Forschungsinstituts für Raumfahrtmedizin und Physiologie (MEDES) in Toulouse, Frankreich.

Quelle: <http://www.medes.fr/fr/un-centre-de-recherche-clinique/l-infrastructure.html>

Die Umgebungsbedingungen wie Temperatur und Licht wurden während der gesamten Studie täglich reguliert und überwacht, sodass die Temperatur konstant  $20-25 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$  und die Lichtintensität zwischen 0 und 500 Lux betrug.

### 3.3 Probandenkollektiv

### 3.3.1 Rekrutierung und Screening

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte durch Anzeigen und Werbung im Internet, Fernsehen, Radio und Zeitungen sowie aus dem archivierten Probanden-Pool früherer Studien.

Einschlusskriterien:

- gesunde Männer
- Alter zwischen 20-45 Jahre
- *Body mass index* (BMI) zwischen 20-26 kg/m<sup>2</sup>
- Größe zwischen 158-190 cm



## Material und Methoden

- $VO_{2max} > 35 \text{ ml/min/kg}$  < 35 Jahre
- $VO_{2max} > 30 \text{ ml/min/kg}$  > 35 Jahre
- Körperlich und mental gesund
- Keine persönliche oder familiäre chronische, akute oder psychologische Erkrankung, welche die Ergebnisse und/oder den Probanden gefährden könnte
- Nichtraucher, keine Alkohol- bzw. Drogenabhängigkeit und medikamentöse Behandlung
- Frei von orthopädischen, muskuloskeletalen und kardiovaskulären Erkrankungen
- Bereitschaft der Teilnahme an der gesamten Studie (alle drei Kampagnen)
- Sozialversicherung

### Ausschlusskriterien:

- Orthostatische Intoleranz oder vestibuläre Erkrankung
- Hiatus Hernie oder gastroösophagealer Reflux, Schilddrüsenfunktionsstörung, Nierensteine, Diabetes mellitus, Migräne, Allergien
- Kardiale Rhythmusstörungen
- Chronische Rückenschmerzen
- Thrombophlebitis, Thrombose in der Familie oder positive Antwort auf Thrombose-Screening
- Klaustrophobie
- Genetische Muskel- und Knochenerkrankungen
- Knochendichte: T-Wert  $\leq -1,5$
- Probleme mit Blutabnahmen
- Blutspende in den letzten drei Monaten vor Studienstart
- Spezielle Intoleranzen (Laktose), Allergien (Milchprotein) oder Diätformen (Vegetarier, Veganer)
- Echokardiographie: fehlerhaftes thorakales Schallfenster
- Knieprobleme, Gelenk-OP oder Brüche in der Vergangenheit
- Fraktur im Jahr vor Studienteilnahme
- Osteosynthesematerialien, metallene Implantate
- Fraglicher krimineller Hintergrund
- Verwaltungsmäßige Kriterien

Eine Vorselektion laut Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte durch ein Telefonscreening. Potentielle Probanden erhielten danach eine detaillierte Probandeninformation und wurden zu

einem medizinischen Screening in MEDES mit dem leitenden Studienarzt und dem Studienkoordinator eingeladen.

Bei weiterem Interesse des Probanden erfolgte ein psychologisches Screening bestehend aus zwei Screening Phasen. Zunächst fand eine Vorauswahl anhand psychologischer Fragebögen statt. Anschließend erfolgten persönliche Gespräche mit einem Psychologen, wobei das Augenmerk der Beurteilung des Probanden auf seine Persönlichkeit, seinem Verantwortungsbewusstsein gegenüber der Studie sowie seiner Teamfähigkeit gelegt wurde.

Die endgültige Auswahl erfolgte nach folgenden Kriterien:

- a) den Ergebnissen des medizinischen Screenings MEDES
- b) den Ergebnissen der individuellen psychologischen Interviews, welche in MEDES von einem Psychologen durchgeführt wurden

Dieses komplexe Screening wurde für notwendig befunden, um das Risiko einer hohen *drop-out-Rate* (*drop out*, vorzeitiges Ausscheiden eines Probanden) möglichst gering zu halten.

### 3.3.2 Probanden

Zwölf gesunde, männliche Probanden nahmen an dieser Studie teil. Zu Beginn der zweiten Kampagne, an Tag -1 stieg ein Proband aus nicht studienspezifischen, privaten Gründen aus der Studie aus. Zu Beginn der dritten Kampagne haben zwei Probanden aus nicht studienspezifischen, privaten Gründen die Studie abgebrochen, so dass die dritte Kampagne mit n=9 Probanden startete. An Tag 17 der Bettruhephase fiel ein weiterer Proband ebenfalls aus nicht studienspezifischen, privaten Gründen aus, so dass die dritte Kampagne mit n=8 Probanden erfolgreich abgeschlossen wurde. In Tabelle 3.1 sind das Alter, das Gewicht, die Größe, der *Body-Mass-Index* (BMI) sowie die maximale Sauerstoffaufnahme ( $\text{VO}_2 \text{ max}$ ) der 8 Probanden, die in die Auswertung aller 3 Studienkampagnen einbezogen wurden, zusammengestellt.

*Tabelle 3.1: Anthropometrische Daten der acht Probanden mit vollständigen Datensätzen als Mittelwerte (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD)*

	Alter (J)	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$\text{VO}_2 \text{ max}$ ml/min/kg
MW	37	72,6	1,77	23	39
SD	7	8,6	0,07	2	5

Nach eingehender mündlicher und schriftlicher Aufklärung über mögliche Risiken der Untersuchungen gaben alle Probanden schriftlich vor Studienbeginn ihre Einverständniserklärung ab.

### 3.4 Diät

Die Probanden erhielten während des gesamten Studienzeitraums in allen drei Kampagnen eine adäquate, standardisierte und strikt kontrollierte Nährstoffzufuhr, welche individuell auf jeden Probanden angepasst wurde.

#### 3.4.1 Energiezufuhr

Der Gesamtenergieumsatz wurde individuell berechnet. Hierfür wurde der Grundumsatz mit einem Aktivitätslevel von 1,4 für die ambulante Phase und 1,1 für die Bettruhephase multipliziert. Zusätzlich wurden 10% des Gesamtenergieumsatzes für die nahrungsinduzierte Thermogenese addiert.

Berechnung des Gesamtenergieumsatzes (TEE):

Adaptations- und Erholungsphase:

$$\text{TEE (kcal/d)} = 140\% \text{ REE} + 10\% \text{ TEF}$$

Interventionsphase:

$$\text{TEE (kcal/d)} = 110\% \text{ REE} + 10\% \text{ TEF}$$

wobei:

TEE = Gesamtenergieumsatz (*total energy expenditure*)

REE = Grundumsatz (*resting energy expenditure*)

TEF = Nahrungsinduzierte Thermogenese (*thermogenetic effect of food*)

Der Grundumsatz wurde zunächst mittels WHO-Formel berechnet und an Tag -7 zur Erstellung der Menüpläne zugrunde gelegt.

WHO-Formel für den Grundumsatz < 30 Jahre:  $15,3 \cdot \text{Körpergewicht} + 679$

WHO-Formel für den Grundumsatz > 30 Jahre:  $11,6 \cdot \text{Körpergewicht} + 879$

## Material und Methoden

Am Studientag -7 wurde der REE mittels indirekter Kalorimetrie (Deltatrac™ II MBM-200 Metabolic Monitor, Datex Ohmeda, Hoyer, Bremen) gemessen (s. Abbildung 3.4). Da sich in früheren Bettruhestudien gezeigt hat, dass der REE während der ersten stationären Tage sinkt, erfolgte am Studientag -3 eine weitere, indirekte Kalorimetriemessung. Diese Messung des REE wurde als Grundlage für die Berechnung des TEE ab Tag 1 in HDT herangezogen.



Abbildung 3.4: Deltatrac™ II MBM-200 Metabolic Monitor zur Messung des Ruhe-Nüchtern-Umsatz

Zur Bestimmung der Körperkomposition erfolgten an den Studientagen -7 und 10 Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DXA)-Messungen. Wurde an Tag 10 eine Abweichung der Fettmasse um mehr als 200 g beobachtet, so erfolgte eine erneute Anpassung der Gesamtenergiezufuhr an Tag 19.

Am Tag -2 während der 1. Kampagne und an Tag 19 in allen drei Kampagnen wurde ein hyperinsulinämischer-euglykämischer Clamp durchgeführt. Aufgrund der Energiezufuhr über die Glucose Lösung wurden die diätetische Energiezufuhr sowie die Gesamtenergiezufuhr reduziert. Die Gesamtenergiezufuhr an diesen Tagen wurde folgendermaßen berechnet:

$$TEE_{\text{Clamptage}} = TEE - 1000 \text{ kcal}$$

Des Weiteren erfolgte eine Anpassung der Gesamtenergiezufuhr an den Trainingstagen:

$$TEE_{\text{Trainingstage}} = TEE + 2,9 \cdot \text{KG}$$

Hierbei wurde das Körpergewicht vom ersten Studientag (Tag-7) zur Berechnung verwendet. Hintergrund für diese Anpassung sind Vorversuche in einer Stoffwechselkammer, bei denen der ungefähre, zusätzliche Bedarf an Energie während eines Kraft- und Vibrationstraining mittels indirekter Kalorimetrie ermittelt wurde (Boschmann *et al.* (2010)).

### 3.4.2 Nährstoffzufuhr

Folgende Nährstoffe wurden während der gesamten Studie konstant gehalten:

- Makronährstoffe:
  - Protein: 1,2 g/kg KG/d ;
  - Kohlenhydrate: > 30 g/d; 50-60% der Gesamtenergieaufnahme
  - Fett: < 30% der Gesamtenergieaufnahme
    - Fettsäuren: gesättigt < 10% der Gesamtenergieaufnahme;
    - mehrfach-ungesättigt > 7% der Gesamtenergieaufnahme
  - Ballaststoffe: > 30 g/d
- Mikronährstoffe:
  - Natrium: 3,5-4,5 g/d
  - Kalium : 3,5 -5,0 g/d
  - Chlorid : 6,0-7,5 g/d
  - Calcium: 1-1,2 g/d
  - Magnesium: 300 mg/d
  - Phosphor: 700-1500 mg/d
- Flüssigkeitsaufnahme: 35-50 ml/kg/d

In Tabelle 3.2 ist die tägliche Nährstoffzufuhr der drei Kampagnen in allen drei Phasen zusammengefasst.

## Material und Methoden

*Tabelle 3.2: Tägliche Nährstoffzufuhr in der Adaptations- (Prä), Interventions- (HDT) und Erholungsphase (Post) während der drei Kampagnen*

*Dargestellt sind MW  $\pm$  SD der siebentägigen Adaptationsphase, der 21tägigen Interventionsphase und der sechstägigen Erholungsphase in den drei Kampagnen (CON, RVE, NEX)*

	Prä			HDT			Post		
	CON	NEX	RVE	CON	NEX	RVE	CON	NEX	RVE
Energie (kcal/d)	2512 $\pm$ 90	2461 $\pm$ 219	2474 $\pm$ 170	1934 $\pm$ 209	2002 $\pm$ 212	1989 $\pm$ 245	2548 $\pm$ 39	2564 $\pm$ 2	2561 $\pm$ 3
Protein (g/d)	87,3 $\pm$ 0,5	87,7 $\pm$ 0,6	87,4 $\pm$ 0,1	87,5 $\pm$ 8,7	126,8 $\pm$ 9,2	87,2 $\pm$ 8,7	86,7 $\pm$ 1,8	87,5 $\pm$ 0,0	87,4 $\pm$ 0,2
Protein (g/kg/BW/d)	1,2 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,0
Protein (%TEE)	14,4 $\pm$ 0,7	14,8 $\pm$ 1,6	14,8 $\pm$ 1,7	18,5 $\pm$ 0,3	26,1 $\pm$ 1,5	18,0 $\pm$ 0,9	13,9 $\pm$ 0,1	14,0 $\pm$ 0,0	14,0 $\pm$ 0,0
Fett (g/d)	90,0 $\pm$ 5,7	88,5 $\pm$ 10,3	88,9 $\pm$ 8,6	69,2 $\pm$ 8,4	70,3 $\pm$ 9,3	71,3 $\pm$ 10,1	92,2 $\pm$ 3,2	92,6 $\pm$ 2,2	92,5 $\pm$ 2,3
Fett (% TEE)	33,3 $\pm$ 1,4	33,3 $\pm$ 1,2	33,4 $\pm$ 1,2	33,2 $\pm$ 1,1	32,5 $\pm$ 1,4	33,3 $\pm$ 1,2	33,7 $\pm$ 0,8	33,6 $\pm$ 0,8	33,6 $\pm$ 0,8
Kohlenhydrate (g/d)	322,3 $\pm$ 13,4	313,0 $\pm$ 32,0	315,4 $\pm$ 24,6	227,7 $\pm$ 24,7	205,1 $\pm$ 26,0	236,5 $\pm$ 31,6	325,8 $\pm$ 5,1	327,8 $\pm$ 4,3	327,7 $\pm$ 4,2
Kohlenhydrate (%TEE)	52,5 $\pm$ 0,9	52,0 $\pm$ 1,1	52,0 $\pm$ 1,2	48,3 $\pm$ 0,8	42,0 $\pm$ 1,5	48,7 $\pm$ 1,2	52,4 $\pm$ 0,7	52,4 $\pm$ 0,7	52,4 $\pm$ 0,7
Natrium (mg/d)	3625 $\pm$ 185	3580 $\pm$ 271	3590 $\pm$ 246	3542 $\pm$ 347	3633 $\pm$ 308	3537 $\pm$ 326	3648 $\pm$ 200	3681 $\pm$ 190	3692 $\pm$ 184
Kalium (mg/d)	4252 $\pm$ 289	4160 $\pm$ 469	4206 $\pm$ 392	3845 $\pm$ 374	4011 $\pm$ 387	3886 $\pm$ 378	4350 $\pm$ 338	4402 $\pm$ 316	4343 $\pm$ 308
Phosphor (mg/d)	1353 $\pm$ 65	1351 $\pm$ 56	1350 $\pm$ 59	1294 $\pm$ 158	1385 $\pm$ 155	1305 $\pm$ 163	1389 $\pm$ 87	1400 $\pm$ 70	1392 $\pm$ 71
Calcium (mg/d)	1170 $\pm$ 46	1144 $\pm$ 102	1118 $\pm$ 99	1094 $\pm$ 125	1106 $\pm$ 103	1094 $\pm$ 125	1154 $\pm$ 45	1167 $\pm$ 46	1137 $\pm$ 25
Ballaststoffe (g)	42 $\pm$ 5	41 $\pm$ 4	42 $\pm$ 4	35 $\pm$ 6	32 $\pm$ 5	36 $\pm$ 6	44 $\pm$ 6	45 $\pm$ 5	44 $\pm$ 6

Die Probanden erhielten während der stationären Aufenthalte täglich oral 1000 Internationale Einheiten (IU, *international units*) Vitamin D<sub>2</sub>, (Uvesterol, Crinex). Zwischen den Kampagnen wurden die Probanden gebeten die Aufnahme von täglich 1000 IU Vitamin D<sub>2</sub> beizubehalten. An Studientag R14 der 2. Kampagne erhielten die Probanden einmalig eine orale Dosis von

## Material und Methoden

200.000 IU Vitamin D<sub>3</sub>, Cholecalciferol (Bouchara-Recordati Laboratory) als präventive Maßnahme.

*Tabelle 3.3: Vitamin D-Spiegel (mg/dl) im Serum der 8 Probanden als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung pro Studienkampagne*

Studientag:	Tag -5	Tag 13	R6
1. Kampagne	25 $\pm$ 9	25 $\pm$ 7	23 $\pm$ 5
2. Kampagne	19 $\pm$ 4	21 $\pm$ 4	21 $\pm$ 4
3. Kampagne	35 $\pm$ 9	35 $\pm$ 8	32 $\pm$ 8

Aus Tabelle 3.3 wird deutlich, dass die Vitamin D-Spiegel im Serum über dem Referenzwert (DGE 2013) von > 20 mg/dl während der Studienkampagnen lagen.

Die Diät enthielt kein Koffein sowie methylxanthinhaltige Lebensmittel und keinen Alkohol.

### 3.4.3 Erstellung der Menüpläne

Drei Hauptmahlzeiten (Frühstück, Mittag- und Abendessen) sowie zwei Snacks wurden pro Tag gereicht. Die Erstellung der Menüpläne erfolgte mittels der Ernährungssoftware „Nutrilog“ (Nutrilog SAS, 27, rue des Fours, 17230 Marans, France). Nutrilog enthält eine umfassende Datenbank mit Lebensmittelanalysen und Daten vieler Datenbanken, wie der „American Food Database“, dem „Canadian Nutrient File (2005)“, der „CIQUAL-French Official Foods Database“ und vielen weiteren. Für unverarbeitete Lebensmittel wurden diese Analysewerte aus der Datenbank übernommen. Die verarbeiteten Lebensmittel wurden analysiert (Eurofins, Toulouse, Frankreich) und die Datenbank von Nutrilog damit ergänzt.

Die Menüpläne wurden nach einem 7-Tages-Menüzirkel erstellt. Jeder Proband erhielt dieselbe Mahlzeit an dem jeweiligen Studientag. Die Ernährungspläne wurden individuell für jeden Probanden entsprechend den oben aufgeführten Nährwertgrenzen erstellt.

### Mahlzeitenzubereitung

Die Mahlzeiten wurden im Krankenhaus Rangueil (Toulouse) oder vom Lieferanten (Davigel; Les Cadaux, 81370 Saint-Sulpice, Frankreich) hergestellt. Alle Hauptmahlzeiten wurden durch Davigel produziert und tiefgekühlt geliefert. Die Produkte stammten aus derselben Charge und die Nährwertangaben wurden vom Lieferanten zur Verfügung gestellt.

### Zubereitung der Mahlzeiten

Das Abwiegen der Lebensmittel erfolgte mittels Feinwaage (PCE-BSH 600, PCE Deutschland GmbH, Meschede) auf exakt 0,1 Gramm in der metabolischen Bilanzküche von MEDES (s. Abbildung 3.5). Den Probanden wurde während der gesamten Studiendauer nahegelegt alle ihnen zur Verfügung gestellten Nahrungsmittel zu verzehren. Nicht verzehrte Lebensmittel wurden zurückgewogen und die Menüpläne entsprechend der Nährwertgrenzen adaptiert, so dass eine konstante Zufuhr pro Tag erfolgte.



Abbildung 3.5: Grammgenaues Abwiegen in der metabolischen Bilanzküche von MEDES.



### 3.5 Supplementation

#### 3.5.1 Supplementation von Molkenprotein

Während der Interventionsphase erhielt die NEX-Kampagne je 0,6 g/kg KG/d des Molkenproteins, Diaprotein® der Firma Dr.Steudle (Diacare®, Linden, Deutschland), in Wasser gelöst. In den drei Kampagnen wurde das Diaprotein derselben Charge verwendet. Die Interventionsgruppe NEX erreichte somit eine Gesamt-Protein-Aufnahme von 1,8 g/kg KG/d. Die Molkenprotein-Dosis wurde auf die Hauptmahlzeiten verteilt. An den Trainingstagen wurden 50% der Tagesdosis an Molkenprotein 30 min nach dem Training in Wasser gelöst verabreicht. An den Clamptagen wurde die Molkenprotein-Gabe auf die zwei Hauptmahlzeiten (Mittag- und Abendessen) und Snacks verteilt. In Tabelle 3.4 sind die Nährwerte des Molkenproteins und die durchschnittliche Einnahme aufgelistet.

*Tabelle 3.4: Molkenproteinisolat<sup>1</sup>*

Einnahme (g/d)	39.5 ± 14
Energie (kcal)	370
Protein (g)	90
Fett (g)	1,2
Kohlenhydrate (g)	2,5
Calcium (mg)	400
Kalium (mg)	650
Natrium (mg)	250
Magnesium (mg)	20
Chlor (mg)	150
Phosphor (mg)	240

#### 3.5.2 Supplementation von Kaliumbicarbonat

In der NEX-Kampagne erhielten die Probanden täglich 90 mmol des alkalischen Mineralsalzes KHCO<sub>3</sub> in Form von Brausetabletten (Inhaltsstoffe: Zitronensäure, Kaliumhydrogencarbonat, Inulin, Natriumcylamat, Aroma, Stärke, Calciumcarbonat, Acesulfam-K, Siliciumoxid) der

<sup>1</sup> Durchschnittliche Einnahme ± SD der 8 Probanden und Nährwertangaben (pro 100g)

Firma Krüger GmbH (Bergisch-Gladbach, Deutschland). Die Gabe wurde auf sechs Mahlzeiten zu den Hauptmahlzeiten und Snacks (6 x 15 mmol/d) verteilt. Eine Brausetablette (1,5 g) wurde in 100 ml Wasser aufgelöst und den Probanden zum Verzehr gereicht.

### 3.6 Kraft- und Vibrationstraining

Die Interventionsgruppen (RVE und NEX) erhielten während der Bettruhephase ein individuell angepasstes Kraft- und Vibrationstraining auf dem Galileo® Space Gerät (Novotec Medical GmbH, Pforzheim, Deutschland). Die Trainingseinheiten wurden im Liegen und unter Aufsicht eines Sportwissenschaftlers und eines Arztes durchgeführt, um jegliche Verletzungen zu vermeiden.

Das Training fand zweimal pro Woche mit vier Intervallen und somit sechsmal während der Interventionsphase statt (Studientag 2, 5, 12, 16 und 21). Zwei Trainingssitzungen (Tag -6 und -4) fanden während der Adaptationsphase zum einen zur Eingewöhnung an das Gerät und zum anderen zur Bestimmung des Wiederholungsmaximums (*repetition maximum*, 1-RM) eines jeden Probanden statt.

Hierfür wurden so viele Wiederholungen wie möglich (1-10 Wiederholungen) bei submaximaler Belastung durchgeführt. Das Wiederholungsmaximum wurde hieraus annähernd berechnet. Als Grundlage diente die Tabelle von Berger, RA (Berger (1961)).

Die Trainingseinheiten jedes einzelnen Probanden fanden immer zum gleichen Tageszeitpunkt statt. Die Zeiten vor und nach dem Training wurden mit den Mahlzeiteinnahmen und der Molkenproteingabe genau abgestimmt.

Das Galileo® Space Gerät (s. Abbildung 3.6) besteht aus einer flexiblen Rückenablage und einer verstellbaren Schulterauflage, sodass die Kraft optimal für jeden Körper auf die dorsoventrale Achse (Z-Achse) des Körpers übertragen werden kann. Die Kraft wird durch einen Druckzylinder erzeugt, während die Vibrationen entlang der dorsoventralen Achse durch eine vibrierende Fussplatte die sich seitenalternierend bewegt erzeugt werden. Hierbei lässt sich sowohl die Amplitude (Auslenkung der Plattform nach oben oder unten) als auch die Frequenz der Vibration verstellen. Durch diesen Ablauf verursacht die Trainingsplattform Bewegungen ähnlich einer Wippe.

Das Prinzip des Galileo® Space Geräts beruht auf dem natürlichen Bewegungsablauf des Menschen beim Gehen. Durch die, wie oben beschrieben, seitenalternierende Bewegungsform wird eine komprimierte Gehbewegung simuliert. Die somit erzeugten Wipp-Bewegungen der Trainingsplattform verursachen eine Kipp-Bewegung des Beckens wie beim

## Material und Methoden

Gehen, jedoch häufiger. Um diese Bewegungen auszugleichen reagiert der Körper mit rhythmischen Muskelkontraktionen im Wechsel zwischen linker und rechter Körperhälfte. Diese reflexgesteuerten Muskelkontraktionen erfolgen unwillentlich durch den so genannten Dehnreflex. Dabei wird die Muskulatur in den Beinen, im Bauch und Rücken bis hinauf in den Rumpf aktiviert (Belavy *et al.* (2010)).

Während des Trainings trugen die Probanden dünnsohlige, ungepolsterte Sportschuhe.



Abbildung 3.6: Galileo® Space Gerät.

©CNES / Emmanuel GRIMAULT, 2012

Das Training unterteilte sich in fünf Phasen: Zunächst erfolgte das Aufwärmen, im Anschluss Kniebeugen, darauf das Fersenheben zunächst einseitig (unilateral) und danach beidseitig (bilateral) und abschließend das Zehenheben (vgl. Abbildung 3.7). Die Dauer für das Training betrug ca. 25 min. Tabelle 3.5 stellt die einzelnen Übungen einer Trainingsintervalls dar. Für die Berechnung der Belastung wurde jeweils das Körpergewicht von Tag -7 der Adaptationsphase der entsprechenden Kampagne verwendet.



Abbildung 3.7: Trainingsablauf: Hockübung (1), Fersenheben, unilateral (2), Fersenheben, bilateral (3)

© CNES / Emmanuel GRIMAULT, 2012

Tabelle 3.5: Darstellung der fünf Übungseinheiten eines Trainingsintervalls

Übung	Grad	Belastung	Kadenz	Dauer	Vibration	Pause
Bilateral Kniebeugen (Aufwärmen)	Kniereflexion: 10° to 90°	50% 1-RM	4 sek. konzentrisch, 4 sek. exzentrisch	8 Wiederholungen	8 mm, 25 Hz	120 sek.
Kniebeuge	Kniereflexion: 10° to 90°	75% 1-RM				300 sek.
Fersenheben, unilateral, Bein A	max. Dorsal- und Plantarflexion	1,3 x Körpergewicht	schnellstmögliche Durchführung (0,4-0,7 Hz)	bis zur Erschöpfung		90 sek.
Fersenheben, unilateral, Bein B						240 sek.
Fersenhebn, bilateral		1,8 x Körpergewicht				120 sek.
Zehenheben	Max. Dorsalflexion	1,5 x Körpergewicht	-	60 sek.	8 mm, 16 Hz	-

Bei den Kniebeugen wurden zu Beginn 75% des 1-RM durchgeführt. Anschließend erfolgte eine Steigerung der Last um 5% wenn mehr als zehn Wiederholungen geschafft wurden. Eine Senkung der Last um 5% erfolgte, wenn sechs oder weniger Wiederholungen möglich waren. Abbildung 3.8 stellt das Bewegungsmaß beim Fersenheben dar. Während des Fersenhebens wird ein unmittelbarer Kontakt der Ferse mit der Fussplatte durch einen Balken unter dem Vorderfuss vermieden. Hierbei wurde eine schnellstmögliche Durchführung mit so vielen Wiederholungen wie möglich, bis zur Erschöpfung oder inakkurater Ausführung der Übung, angestrebt. Gestartet wurde mit einer Last vom 1,3-fachen des Körpergewichts. Anschließend wurde die Last um 5% gesteigert, wenn mehr als 50 Sekunden durchgeführt werden konnten und um 5% gesenkt, wenn 30 Sekunden oder weniger geschafft wurden.

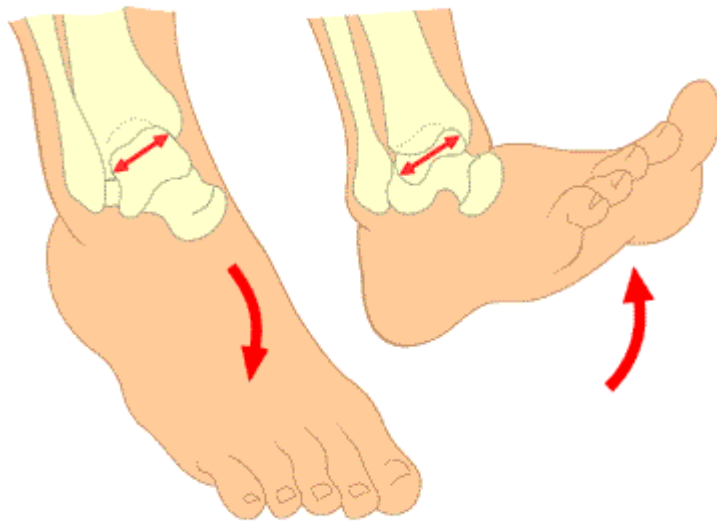


Abbildung 3.8: Bewegungsmaß beim Fersenheben; Plantar- (↓) und Dorsalflexion (↑)

1999 Prof. Dr.J.Jerosch

Auch beim Fersenheben bilateral wurde ein unmittelbarer Kontakt der Ferse mit der Fussplatte durch einen Balken unter dem Vorderfuß vermieden. Das Ziel war hier ebenfalls die schnellstmögliche Durchführung mit so vielen Wiederholungen wie möglich, bis zur Erschöpfung. Am Anfang der Einheit ergab sich die Last aus dem 1,8-fachen des Körpergewichts. Eine Steigerung der Last um 5% erfolgte, wenn mehr als 55 Sekunden durchgeführt werden konnten. Eine Senkung der Last um 5% erfolgte, wenn 40 Sekunden oder weniger durchgeführt werden konnten.

Während der Erholungsphase an Studientag R3, R4 und R5 wurde zur Regeneration für 20 Minuten ein Fahrradtraining bei 40-60% maximalen Herzfrequenz, durchgeführt.

### 3.7 Physiotherapie

Während der Bettruhephase erhielten die Probanden jeden zweiten oder dritten Tag eine Physiotherapie zur Vermeidung von Rückenschmerzen, hervorgerufen durch das Liegen. Alle Probanden bekamen dieselbe Behandlung bestehend aus einer leichten Massage zur Risikosenkung von Muskelverspannung und Rückenschmerzen. Somit wird nicht erwartet, dass diese Behandlung einen Effekt auf die Ergebnisse aufweist.

### 3.8 Blutabnahmen

Blutabnahmen erfolgten in allen drei Kampagnen an den in Tabelle 3.6 dargestellten Experimenttagen. Für die Analyse der Knochenparameter wurde zusätzlich an zwei weiteren Experimenttagen (R14 und R28) Blut abgenommen.

Tabelle 3.6: Blutabnahmezeitpunkte

	Blutentnahme zur Analyse von:	
	Calcium	bAP, PINP
Studientag	Tag -3; -2; 13;14; 19; 21; R2; R6	
		Tag -5; 16; R14; R28

Unmittelbar nach dem Aufwecken der Probanden gegen 7.00 Uhr morgens wurde den nüchternen Probanden vor dem Aufstehen (in der Adaptations-, Interventions- und Erholungsphase) Blut entnommen. Zur Abnahme wurde das Blutabnahmesystem Vacuette® (GBO, Deutschland) verwendet.

Die für die Blutabnahme verwendeten Serum-Vacuetten wurden 30 Minuten nach der Abnahme bei 2000 x g für 10 Minuten bei 20°C zentrifugiert (GR412, Jouan). Anschließend wurden die Proben aliquotiert und bei -80°C tiefgekühlt.

### 3.9 24h-Urin

Während der gesamten stationären Phase wurde 24h-Urin gesammelt. Eine Sammelperiode begann am Morgen des ersten Studientages um 7:00 Uhr, wobei der erste Morgenurin von Tag -6 verworfen wurde, und endete um 07:00 Uhr des Folgetages mit der Abgabe des Morgenurins. Die Urine wurden in Sammelbehältern bei 4°C kühl und dunkel gelagert. Am Morgen und somit Ende einer jeden Sammelperiode wurde der Urin gepoolt und aliquotiert. Die Aliquots wurden im Anschluss bis zur Analyse bei -20°C gelagert. Tabelle 3.7 fasst die Studientage an denen die Urinparameter analysiert wurden zusammen.

Tabelle 3.7: Urinanalysetage

	24h-Urin Aliquots zur Analyse von:	
	Calcium	CTX, NTX, PINP
Studientag	Tag -4; -3; 3; 4; 10; 11; 14; 15; 17; 18; 20; 21; R3; R4;	

### 3.10 Bestimmungsmethoden

#### 3.10.1 Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels

Um Interassayvariationen vorzubeugen erfolgte die Bestimmung der Proben eines jeden Probanden aus den drei Studienkampagnen in Reihe und in Assays derselben Charge.

##### 3.10.1.1 Calciumexkretion

Die Calciumexkretion wurde photometrisch mittels des automatischen Analysesystem Hitachi Modular (Modular P-Modul, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland; Test Kit: Roche Calcium Gen.2 reagent, Roche Diagnostics, Mannheim Deutschland) bestimmt. Vorab wurden die Proben mit 10% 6N HCl angesäuert. Der Nachweisbereich liegt bei 0,2-7,5 mmol/L. Die Intraassayvarianz lag bei -0,98% (Kontrolle 1: Messbereich: 1,87- 2,21 mmol/L) und -3,92% (Kontrolle 2: Messbereich: 2,8-3,32 mmol/L). Zur Berechnung der gesamten täglichen Ausscheidung wurden die ermittelten Konzentrationsangaben mit dem Urinvolumen des zugehörigen Studientages multipliziert.

##### 3.10.1.2 Knochenformationsmarker (PINP, bAP)

###### *Aminoterminalen Propeptid des Typ 1 Prokollagens (PINP)*

Das in den Osteoblasten gebildete Vorläufermolekül des Typ-1-Kollagens, PINP, wurde mittels Radioimmunoassays (PINP: UniQ RIA kit, Orion Diagnostica, Espoo, Finnland) nachgewiesen. Der Nachweisbereich liegt bei 5-250 µg/L. Die Intraassayvarianz lag bei 9,19%.

###### *Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)*

Die knochenspezifische, alkalische Phosphatase ist ein zellmembranständiges Enzym der Osteoblasten und wurde mittels kommerziell erwerblichen Assays (bAP: Micro Vue, Quidel Corporation, Santa Clara, CA) bestimmt. Der Nachweisbereich liegt bei 15,0 – 41,3 U/L. Die Intraassayvarianz lag bei 4,56%.

##### 3.10.1.3 Knochenresorptionsmarker (CTX, NTX)

An den in Tabelle 3.7 aufgeführten Experimentiertagen wurden die Knochenresorptionsmarker, Carboxyterminales Kollagen-Typ-I-Telopeptid (CTX) und

Aminoterminal Kollagen-Typ-I-Telopeptid (NTX) nachgewiesen. Mittels dieser beiden Parameter kann die Aktivität des Knochenabbaus beurteilt werden. Die Bestimmung erfolgte mit kommerziell erwerblichen Assays (CTX: Tecan, Männerdorf, Schweiz; NTX: Osteomark, Ostex International Incorporated, Seattle, WA). Der Nachweisbereich für den CTX Assay lag zwischen 0,69-25,2 ng/ml. Die Intraassayvarianz betrug 8,77% (Kontrolle 1: Messbereich: 958-1436 µg/L) und 12,77% (Kontrolle 2: Messbereich: 2086-3128 µg/L). Der Nachweisbereich für den NTX Assay lag bei 20 - 3000 nmol/L. Die Intraassayvarianz betrug 5,64%.

### 3.10.2 Parameter des Säuren-Basen-Status

#### 3.10.2.1 Potentielle renale Säurelast der Diät

Die Säurelast der Diät wurde mittels des PRAL-Modells (*potential renal acid load*, potentielle renale Säurelast) abgeschätzt und berechnet (Remer & Manz (1994)). Der PRAL-Wert gibt das Verhältnis von Säuren- zu Basenvorläufern in der Diät an und berechnet sich aus der Summe der nicht-metabolisierbaren Anionen und Protein (Säurevorläufer) abzüglich der Summe mineralischer Kationen (Basenvorläufer)<sup>2</sup>. Ein positiver PRAL-Wert zeigt einen Überschuss von Säurevorläufern in der Diät an, ein negativer dagegen gibt Auskunft über einen Überschuss an Basen. Ein PRAL-Wert von 0 stellt ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen Säuren- und Basenvorläufern einer Diät dar.

PRAL-Berechnung Diät:

$$\text{PRAL (mEq/d)} = (0,0366 * P + 0,488 * \text{Protein}) - (0,0205 * K^+ + 0,0263 * Mg^{2+} + 0,0125/0,0155 * Ca^{2+})$$

PRAL-Berechnung Molkenprotein:

$$\text{PRAL (mEq/d)} = (0,0366 * P + ((2 * (0,00503 * \text{Met}) + (0,0062 * \text{Cys}))) - (0,0205 * K^+ + 0,0263 * Mg^{2+} + 0,0155 * Ca^{2+}))$$

wobei:

---

<sup>2</sup> nicht metabolisierbare Anionen: Phosphat  $PO_4^{2-}$ , Sulfat  $SO_4^{2-}$  sowie organische Anionen OA; mineralische Kationen: Kalium  $K^+$ , Calcium  $Ca^{2+}$  und Magnesium  $Mg^{2+}$



## Material und Methoden

P	= Phosphor (mg/d)
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	= Hydrogencarbonat (mg/d)
Protein	= Protein (g/d)
Met	= Methionin (mg/d)
Cys	= Cystein (mg/d)
K <sup>+</sup>	= Kalium (mg/d)
Mg <sup>2+</sup>	= Magnesium (mg/d)
Ca <sup>2+</sup>	= Calcium (mg/d)

Für die PRAL-Berechnung der Diät wurde eine veränderte Absorptionsrate für Calcium in Kopftieflage berücksichtigt. So konnte LeBlanc et al. (LeBlanc *et al.* (1995)) durch eine stabile Isotopenmessung zeigen, dass die intestinale Calciumabsorption in Kopftieflage 24% beträgt, während sie in aufrechter Körperkomposition bei 31% liegt.

### 3.10.2.2 Netto- Säureausscheidung im 24h-Urin

Die Netto-Säureausscheidung (net acid excretion, NAE) wurde jeweils an Tag -2 / -1 in der Adaptionsphase und an Tag 20 / 21 der Intervention analysiert. Hierfür wurde eine Endpunkttitration im 24h-Urin an einem handelsüblichen Titrator (Mettler Toldeo DL50, Mettler Toldeo, Gießen, Deutschland) nach Jörgensen (JORGENSEN (1957)) durchgeführt und nach Lüthy et al. (Luthy *et al.* (1977)) modifiziert. Zum Messen des pH-Wertes diente eine pH-Elektrode mit Flachmembran (LOT 304-M8-S7/120, Mettler Toledo, Gießen, Deutschland).

Berechnung der Netto-Säureausscheidung:

$$\text{NAE (mEq/d)} = \text{TA} + \text{NH}_4^+ - \text{HCO}_3^-$$

wobei:

TA = titrable acid, tritierbare Säure (mEq/d)

NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = Ammonium (mEq/d)

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> = Bicarbonat (mEq/d)

Zur Auswertung wurde der Mittelwert aus den Duplikaten gebildet, wobei Wiederholungsmessungen bei folgenden Variationskoeffizienten erfolgten: TA und NH<sub>4</sub><sup>+</sup> > 5%, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> > 15%.

### 3.10.3 Stickstoffbilanz

Die Stickstoffbilanz bezeichnet die Differenz zwischen aufgenommener und ausgeschiedener Stickstoffmenge in einem definierten Zeitraum. Hierfür wurde zunächst die Stickstoffaufnahme pro Tag sowie die Stickstoffausscheidung im entsprechenden 24h-Urin berechnet und hieraus die Stickstoffbilanz ermittelt:

$$\text{N-Bilanz (g/d)} = \text{N-Aufnahme (g/d)} - \text{N-Ausscheidung (g/d)}$$

#### Stickstoffaufnahme

Die Berechnung der Stickstoffaufnahme erfolgte für die Studientage an denen auch die Analysen der Urinparameter erfolgten: Tag-4 / -3, 3, 4, 10, 11, 14, 15, 17, 18, 20, 21 und R3 / R4. Anhand der Menüpläne wurde die Stickstoffaufnahme berechnet: Proteinaufnahme/6,25.

#### Stickstoffausscheidung

Die Gesamtstickstoffausscheidung wurde mittels Probeninjektor ASI-V (Shimadzu, USA) und Stickstoff-Analysator TNM-1 (Total Nitrogen Measuring Unit, Shimadzu, USA) analysiert. Die photometrische Messung erfolgte als Doppelbestimmung. Zur Auswertung wurde der Mittelwert der beiden Bestimmungen verwendet. Der Messbereich liegt bei 0,1-4000 mg/L, mit einem Variationskoeffizient von 0,66% und einer Wiederfindung von 104%.

## 3.11 Statistische Auswertung

Die ermittelten Daten werden als Mittelwerte (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software SAS (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA), Version 9.3. Zunächst wurde die Verteilung der Daten grafisch mittels Quantil-Quantil-Plots überprüft. Die Auswertung der Daten erfolgte daraufhin mittels ANOVA Modellen. Innerhalb der Modelle wurden die Differenzen der kleinsten Quadrate, Mittelwerte zwischen den Tagen / Kampagnen und den zugehörigen 2-seitigen 95%igen Konfidenzintervalle bestimmt. Des Weiteren wurden F-Tests, gefolgt von t-Tests über alle paarweisen Mittelwertdifferenzen (wenn die Nullhypothese des F-Tests nicht angenommen werden konnte) untersucht. Als Signifikanzschranke wurde  $p=0,05$  verwendet. Zuerst wurden mittels einer ANOVA mit Baseline als abhängiger Variable und Kampagne als festen Faktor die Baseline Daten der jeweiligen Probanden in den drei Kampagnen untersucht, um zu testen ob die Ausgangsniveaus vor den Interventionsphasen identisch waren. Für Daten aus Serum wurde hier der Mittelwert von Tag -3 / -2 der Adaptationsphase und für Urinparameter der

Mittelwert Tag -4 / -3 der Adaptationsphase als Baseline betrachtet. Da es keine Unterschiede in den Ausgangsniveaus gab, wurde die Baseline für die weiteren Analysen nicht als Kovariate berücksichtigt. Der Unterschied zur Baseline wurde mittels weiteren ANOVA-Modellen untersucht. Hierfür erfolgte eine statistische Auswertung der Interventionsphase und der Erholungsphase in Bezug zur Baseline mittels einer ANOVA mit Unterschied zur Baseline als abhängige Variable, Kampagne, Tag und Interaktion als fester Faktor. Hierbei wurde für die Erholungsphase zunächst der Unterschied zur Baseline über den gesamten Zeitraum und im Anschluss bezogen auf R2 und R6 (Serum) und R3 und R4 (Urin) betrachtet. Die Veränderungen zur Baseline wurden auf Unterschiede in der Behandlungsart (treatment bzw. group) sowie im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Behandlungsart („time\*treatment“) untersucht. Dabei wurde immer der zeitliche Verlauf für jede einzelne treatment-Kampagne getestet. Im Anschluss erfolgte eine Analyse der Interaktionen innerhalb der treatment-Kampagne und deren zeitlicher Verlauf.

Im Folgenden wird der Verlauf der einzelnen treatment-Kampagnen in der Interventionsphase mit dem Ausgangsniveau verglichen und die Unterschiede zwischen den drei treatment-Kampagnen dargestellt. Anschließend erfolgt eine Beschreibung des Verlaufs der einzelnen drei treatment-Kampagnen in der Regenerationsphase im Vergleich zu den Ausgangsniveaus bzw. dem Ende der Interventionsphase und den Kampagnen untereinander. Zunächst werden Signifikanzen über den gesamten Verlauf der Phase beschrieben. Nachfolgend werden einzelne Signifikanzen an den Studientagen der Phase beschrieben.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Parameter des Calcium und Knochenstoffwechsels

In Tabelle 4.1 sind die Mittelwerte der Baseline-Werte der Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels in der Adaptationsphase der unterschiedlichen Studienkampagnen dargestellt. Im weiteren Verlauf wird die absolute Differenz zur Baseline beschrieben.

*Tabelle 4.1: Baseline-Level der Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels*

*Dargestellt sind MW  $\pm$  SD der Studientage -4 und -3 für die Urinparameter (CTX, NTX, Ca) und Tag -3 und -2 für die Blutparameter (PINP, bAP) während der Adaptationsphase. Kein Unterschied in den Baselinedaten zwischen den drei Interventionskampagnen (CON, RVE, NEX);*

Parameter	Kampagne			p-Wert (ANOVA)
	CON	RVE	NEX	
CTX $\mu\text{g/d}$	2611,3 (1117,1)	2639,3 (1080,4)	2886,2 (1279,9)	p = 0,650
NTX nmol/d	649,6 (262,4)	685,8 (309,4)	721,8 (348,8)	p = 0,690
Ca mmol/d	4,5 (1,2)	5,1 (1,4)	4,7 (1,4)	p = 0,216
PINP ( $\mu\text{g/L}$ )	55,5 (18,2)	56,2 (16,9)	52,8 (20,1)	p = 0,729
bAP (U/L)	24,3 (8,5)	23,8 (7,4)	25,0 (6,1)	p = 0,651

#### 4.1.1 Knochenresorptionsmarker

##### Typ 1 Kollagen C-terminales Crosslink Telozeptid (CTX)

In Abbildung 4.1 ist die Veränderung der CTX-Exkretion im Vergleich zur Baseline dargestellt. Während der Interventionsphase stieg die CTX-Konzentration in allen drei Kampagnen an und lag  $88 \pm 23\%$  über dem Ausgangsniveau in der Kontrollkampagne ( $2472,8 \pm 1594,3 \mu\text{g/d}$ ) am Ende der Kopftieflage ( $p < 0,0001$ ) (s. Abbildung 4.1). Der statistische Vergleich der drei Kampagnen (ANOVA repeated measure design) untereinander zeigt signifikante Veränderungen zwischen den Kampagnen ( $p > 0,0001$ ) während der Kopftieflage. So führte das Kraft- und Vibrationstraining (RVE) zu einer  $63 \pm 73\%$  ( $p < 0,0001$ ) und die Kombination von Training und Supplementation (NEX) zu einer  $58 \pm 50\%$  ( $p < 0,0001$ ) geringeren Exkretion an CTX im gesamten Verlauf der Kopftieflage als die Kontrolle. Jedoch zeigt der statistische Vergleich der RVE- und NEX-Kampagne keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,470$ ) während der Kopftieflage, wie in Abbildung 4.1 dargestellt.

## Ergebnisse

Während der Erholungsphase konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Kampagnen festgehalten werden ( $p = 0,137$ ). Allerdings zeigten alle drei Kampagnen eine signifikante Senkung der CTX Exkretion an Tag 3/4 der Erholungsphase in Bezug auf Tag 21 der Interventionsphase, mit einer  $28 \pm 32\%$ ,  $28 \pm 23\%$  und  $30 \pm 30\%$  geringeren Exkretion in der CON- ( $p = 0,0006$ ), RVE- ( $p = 0,003$ ) und NEX-Kampagne ( $p = 0,001$ ).

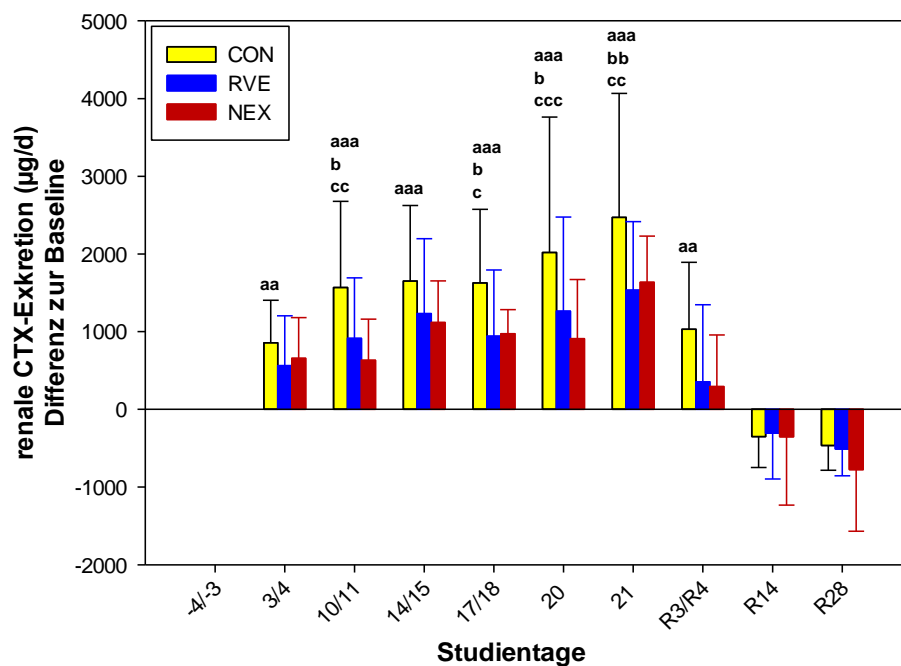


Abbildung 4.1: CTX-Exkretion in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen

Dargestellt sind MW  $\pm$  SD der 8 Probanden als Differenz zur Baseline (MW Tag -4/-3). ANOVA: a: signifikanter Anstieg in der Kontrollkampagne (CON) (a:  $p < 0,05$ ; aa:  $p < 0,01$ ; aaa:  $p < 0,001$ ), b: signifikanter Unterschied zwischen Kontrollkampagne und Trainingskampagne (RVE) (b:  $p < 0,05$ ; bb:  $p < 0,01$ ; bbb:  $p < 0,001$ ) und c: signifikanter Unterschied zwischen Kontrollkampagne und Trainings- plus Molken- und  $\text{KHCO}_3$ -Supplementationskampagne (NEX) (c:  $p < 0,05$ ; cc:  $p < 0,01$ ; ccc:  $p < 0,001$ )

### Typ 1 Kollagen N-terminales Crosslink Telozeptid (NTX)

RVE- und NEX verhinderten einen Anstieg der NTX-Exkretion in der Interventionsphase ( $p = 0,104$ ;  $p = 0,120$ ) (s. Abbildung 4.2). Die NTX-Exkretion stieg nur in der Kontrollkampagne während der Kopftieflage signifikant an ( $p > 0,0001$ ) und lag  $41 \pm 19\%$  über dem Ausgangsniveau am Ende der Interventionsphase.

## Ergebnisse

Der statistische Vergleich der drei Kampagnen ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den Kampagnen während der Interventionsphase ( $p < 0,0001$ ). Die NTX-Konzentration zeigte einen signifikant niedrigeren Verlauf in der RVE-Kampagne als der Kontrollkampagne ( $p = 0,0001$ ), mit einer signifikant geringeren Exkretion von  $36 \pm 198\%$  (Abbildung 4.2;  $p = 0,038$ ) an Tag 20 der Interventionsphase. Auch die NEX-Kampagne wies eine geringere NTX-Exkretion im Vergleich zur Kontrollkampagne, während der Interventionsphase, auf (Abbildung 4.2;  $p = 0,0001$ ), mit einer signifikant niedrigeren NTX-Exkretion von  $16 \pm 31\%$  und  $29 \pm 52\%$  an Tag 10/11 ( $p = 0,008$ ) und 14/15 ( $p = 0,043$ ). Der Vergleich der RVE und NEX-Kampagne während der Kopftieflage zeigte keine Signifikanz ( $p = 0,923$ ).

Die statistische Analyse der Erholungsphase zeigte keinen signifikanten Unterschied zum Ausgangsniveau zwischen den drei Kampagnen ( $p = 0,171$ ).

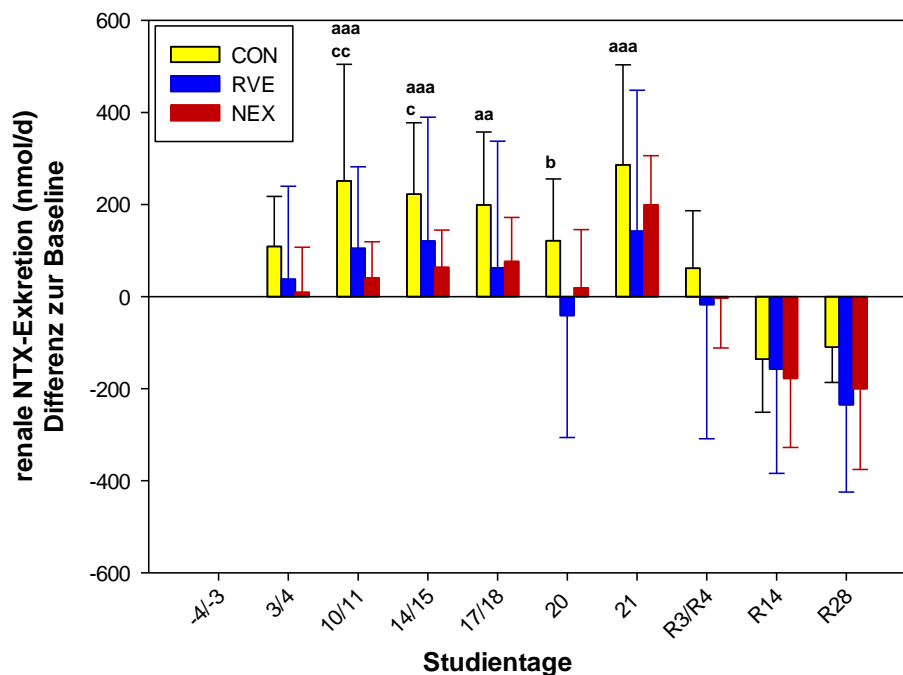


Abbildung 4.2: Renale NTX-Exkretion in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen

Dargestellt sind  $MW \pm SD$  der 8 Probanden als Differenz zur Baseline ( $MW$  Tag -4/-3). ANOVA: a: signifikanter Anstieg in der Kontrollkampagne (CON) (a:  $p < 0,05$ ; aa:  $p < 0,01$ ; aaa:  $p < 0,001$ ), b: signifikanter Unterschied zwischen Kontrollkampagne und Trainingskampagne (RVE) (b:  $p < 0,05$ ; bb:  $p < 0,01$ ; bbb:  $p < 0,001$ ) und c: signifikanter Unterschied zwischen Kontrollkampagne und Trainings- plus Molken- und  $KHCO_3$ supplementationskampagne (NEX) (c:  $p < 0,05$ ; cc:  $p < 0,01$ ; ccc:  $p < 0,001$ )

#### 4.1.2 Calciumexkretion

In Abbildung 4.3 ist die Veränderung der renalen Calciumexkretion des Urins im Vergleich zur Baseline dargestellt. Die statistische Auswertung zeigt eine signifikante Erhöhung der Calciumexkretion in allen drei Kampagnen während der Interventionsphase (CON:  $p < 0,0001$ ; RVE:  $p = 0,001$ ; NEX:  $p = 0,0001$ ). Dabei weist die Kontrollkampagne eine um  $34 \pm 31\%$ , die RVE um  $35 \pm 36\%$  und die NEX um  $56 \pm 44\%$  höhere Calciumexkretion am Ende der Interventionsphase auf ( $p = 0,001$ ;  $p = 0,0004$ ;  $p < 0,0001$ ). Die drei Kampagnen untereinander zeigen keinen Unterschied ( $p = 0,13$ ). Der Normbereich für Männer für die Calciumkonzentration im Urin liegt laut Assay-Hersteller bei  $0,2 - 9,5 \text{ mmol/L}$ . Der Mittelwert der Probanden in allen drei Studienkampagnen lag innerhalb des Normbereichs von  $2,3 \pm 0,1 \text{ mmol/L}$ .

Während der Erholungsphase (Tag R3 / 4) war die Calciumexkretion im Vergleich zum Ausgangsniveau nur noch in der Kontrollkampagne um  $24 \pm 21\%$  signifikant erhöht ( $p = 0,039$ ), allerdings liegt kein Unterschied zum letzten Tag der Intervention vor ( $p = 0,290$ ). Zwischen den Kampagnen konnte kein Unterschied festgestellt werden ( $p = 0,316$ ).

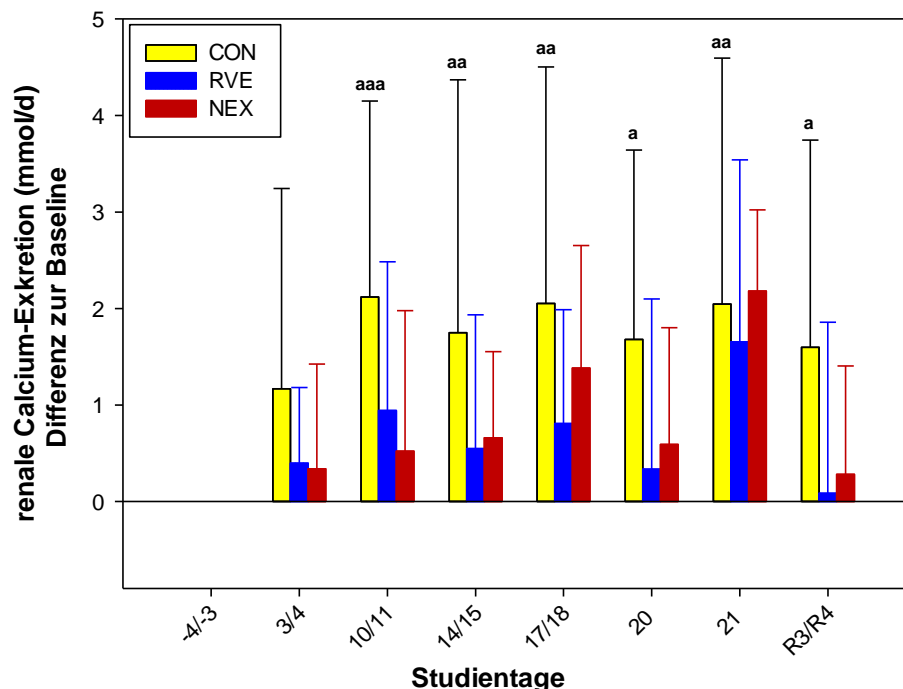


Abbildung 4.3: Calcium-Exkretion in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen

## Ergebnisse

*Dargestellt sind MW  $\pm$  SD der 8 Probanden als Differenz zur Baseline (MW Tag -4/-3). ANOVA: a: signifikanter Anstieg in der Kontrollkampagne (CON) (a:  $p < 0,05$ ; aa:  $p < 0,01$ ; aaa:  $p < 0,001$ )*

### 4.1.3 Knocheninformationsmarker

Die analysierten Knocheninformationsmarker PINP und bAP lagen in allen drei Kampagnen in dem vom Assayhersteller angegebenen Normbereich von 22-87  $\mu\text{g/L}$  und 15-41,3 U/L für Männer (Mittelwert PINP:  $54,0 \pm 19,1 \mu\text{g/L}$ ; bAP:  $25,3 \pm 7,1 \text{ U/L}$ ).

#### Aminoterminalpropeptid des Typ 1 Prokollagen (PINP)

Der Knocheninformationsmarker PINP zeigte in der Interventionsphase eine signifikante Reduktion in der Kontroll- ( $p = 0,001$ ) und RVE-Kampagne ( $p = 0,010$ ), während bei Kombination von Training mit Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  keine signifikante Veränderung im zeitlichen Verlauf auftrat (Abbildung 4.4;  $p = 0,060$ ). Dabei sank die Konzentration von PINP im Serum um  $18 \pm 6\%$  bzw.  $22 \pm 6\%$  in der Kontrollkampagne ( $p = 0,004$ ;  $p = 0,0008$ ) und  $16 \pm 9\%$  bzw.  $16 \pm 8\%$  in der RVE-Kampagne ( $p = 0,010$ ;  $p = 0,007$ ) an Tag 16 und 19 der Interventionsphase. PINP zeigte keine signifikanten Veränderungen zwischen den drei Kampagnen in der Interventions- ( $p = 0,184$ ) und Erholungsphase ( $p = 0,238$ ). In der Erholungsphase kam es zu keinen signifikanten Veränderungen über die Zeit (CON:  $p = 0,073$ ; RVE:  $p = 0,096$ ; NEX:  $p = 0,554$ ).

*Dargestellt sind MW  $\pm$  SD der 8 Probanden als Differenz zur Baseline (MW Tag -3/-2). ANOVA: a: signifikanter Anstieg in der Kontrollkampagne (CON) (a:  $p < 0,05$ ; aa:  $p < 0,01$ ; aaa:  $p < 0,001$ )*

#### Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)

In Abbildung 4.5 sind die Veränderungen zur Baseline der Serumkonzentration von bAP in der Interventions- und Erholungsphase dargestellt. Lediglich in der RVE-Kampagne zeigte sich eine signifikante Erhöhung von bAP mit einer  $17 \pm 16\%$ igen Steigerung der Serum-bAP-Konzentration am Ende der Kopftieflage ( $p = 0,003$ ) während der Interventionsphase ( $p = 0,004$ ). Die Kontroll- ( $p = 0,322$ ) und NEX-Kampagne ( $p = 0,457$ ) hingegen wiesen keine signifikante Veränderung zum Ausgangsniveau auf.

Der Vergleich der drei Kampagnen zeigte einen signifikanten Unterschied während der Interventionsphase ( $p = 0,0006$ ). So führte das Kraft- und Vibrationstraining zu einer signifikant höheren Serumkonzentration an bAP während der Interventionsphase ( $p = 0,002$ ). Die



## Ergebnisse

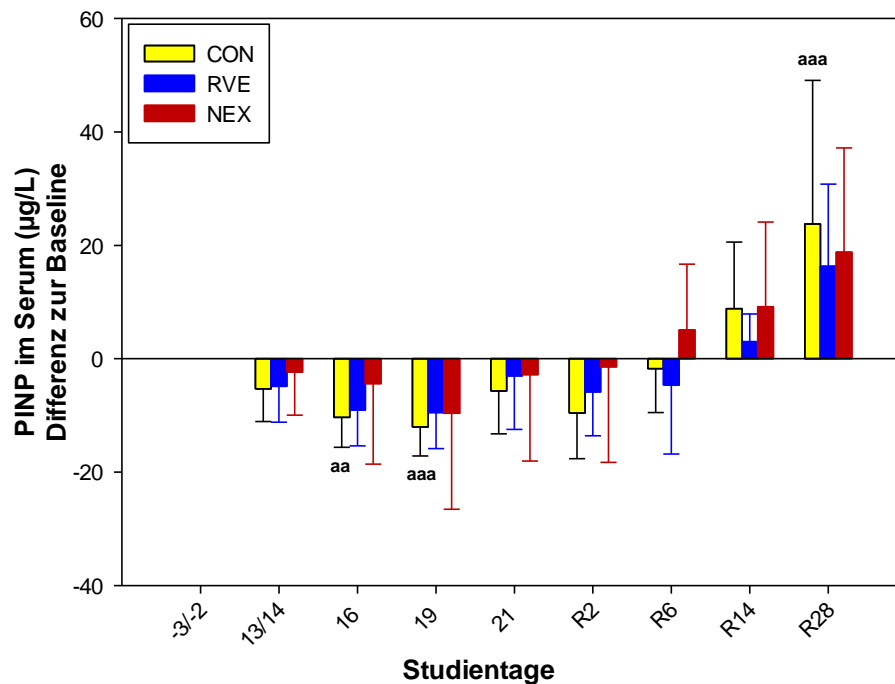


Abbildung 4.4: PINP-Konzentration im Serum in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen

Einzelanalyse der Studientage ergab keine signifikanten Unterschiede. Des Weiteren führte das alleinige Training zu einer höheren bAP Serumkonzentration als die NEX-Kampagne ( $p = 0,0004$ ), mit einer  $28 \pm 65\%$  höheren bAP Serumkonzentration an Tag 16 ( $p = 0,011$ ). Die statistische Analyse zwischen Kontroll- und NEX-Kampagne ergab keine signifikanten Unterschiede während der Interventionsphase (Abbildung 4.5;  $p = 0,684$ ).

In der Erholungsphase kam es zu keinem signifikanten Unterschied zum Ausgangsniveau in den einzelnen Kampagnen (CON:  $p = 0,505$ ; RVE:  $p = 0,132$ ; NEX  $p = 0,993$ ). Die RVE-Kampagne zeigte eine erhöhte Konzentration im Vergleich zur Kontrollkampagne ( $p = 0,003$ ), mit einer  $64 \pm 85\%$  höheren Konzentration an Tag 6 ( $p = 0,009$ ) der Erholungsphase. Darüber hinaus wies die RVE-Kampagne signifikant höhere bAP-Serumkonzentrationen im Vergleich zur NEX-Kampagne auf ( $p = 0,037$ ). Die Einzelanalysen der Studientage ergab jedoch keine signifikanten Unterschiede für einen spezifischen Tag. Zwischen Kontroll- und NEX-Kampagne wurden keine signifikanten Unterschiede während der Erholungsphase aufgezeigt ( $p = 0,364$ ).

Dargestellt sind  $MW \pm SD$  der 8 Probanden als Differenz zur Baseline (MW Tag -3/-2). ANOVA: d: signifikanter Anstieg in der Kraft- und Vibrationstrainingskampagne (RVE) (d:  $p < 0,05$ ; dd:  $p < 0,01$ ; ddd:  $p < 0,001$ ), b: signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und RVE-Kampagne (b:  $p < 0,05$ ; bb:  $p < 0,01$ ;

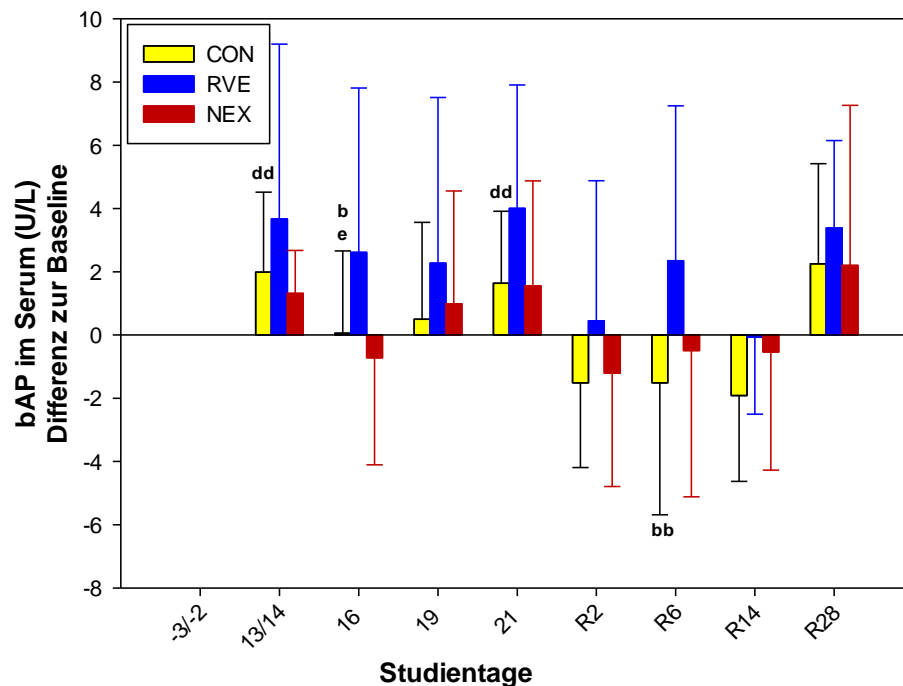


Abbildung 4.5: bAP-Konzentration im Serum in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen

bbb:  $p < 0,001$ ) und e: signifikanter Unterschied zwischen RVE- und Trainings- plus Molken- und  $\text{KHCO}_3$ -Supplementationskampagne (NEX) (e:  $p < 0,05$ )

## 4.2 Parameter des Säuren-Basen-Status

### 4.2.1 Potentielle renale Säurelast (PRAL) der Diät

Die potentielle renale Säurelast des Molkenproteins betrug 26,4 mEq. Die durchschnittliche PRAL der Diät in der Adaptations- sowie Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen ist in Tabelle 4.2 dargestellt. Die Diät in der Adaptations- sowie Erholungsphase lieferte somit einen leichten Überschuss an Basen, während die Diät in der Interventionsphase laut PRAL-Modell leicht säurelastig war. Bezieht man die PRAL von -72 mEq/d für 90 mmol  $\text{KHCO}_3$ /d bei einer durchschnittlichen Absorption von 80% mit in die Berechnung ein, ergibt sich eine PRAL von durchschnittlich -57 mEq/d für die NEX-Kampagne. Somit lieferte die Diät zusammen mit der  $\text{KHCO}_3$ -Gabe in der NEX-Kampagne einen Überschuss an Basen.

## Ergebnisse

*Tabelle 4.2: Potentielle renale Säurelast der Diät (ohne  $\text{KHCO}_3$ -Gabe) (mEq/d)*

*Dargestellt sind MW  $\pm$  SD der PRAL während der Adaptations- (Prä), Interventions- (HDT) und Erholungsphase (Post) in den drei Interventionskampagnen ohne die Supplementation von  $\text{KHCO}_3$  (CON, RVE, NEX);*

Kampagne:	Prä	HDT	Post
<b>CON</b>	-4 $\pm$ 8	6 $\pm$ 12	-6 $\pm$ 10
<b>NEX</b>	-2 $\pm$ 13	15 $\pm$ 14	-7 $\pm$ 9
<b>RVE</b>	-2 $\pm$ 11	5 $\pm$ 11	-6 $\pm$ 9

### 4.2.2 Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin

Abbildung 4.6 zeigt die mittlere analysierte Netto-Säureausscheidung (NAE) der Tage -2 und -1 der Adaptations- und der Tage 20 und 21 der Interventionsphase in den drei Interventionskampagnen. Die statistische Auswertung zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den drei Kampagnen ( $p = 0,003$ ). Am Ende der Kopftieflage betrug die analysierte NAE in der NEX-Kampagne  $5 \pm 15$  mEq/d ( $p = 0,0009$ ) und war somit geringer als in der Kontrollkampagne ( $56 \pm 17$  mEq/d). Des Weiteren wies die NEX eine signifikant niedrigere NAE als RVE ( $51 \pm 12$  mEq/d) auf ( $p = 0,027$ ). Dies korrespondiert mit der Supplementation von  $\text{KHCO}_3$  in der NEX-Kampagne und PRAL (s. 4.2.1)

## Ergebnisse

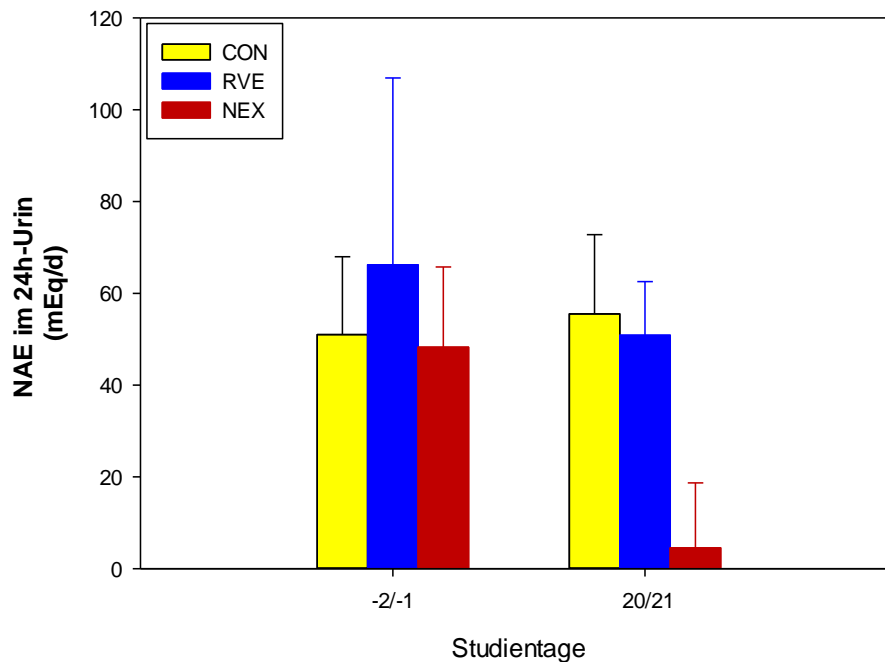


Abbildung 4.6: Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin (mEq/d) während der Baseline- (Tag -2/-1) und Interventions-Messung (Tag 20/21) in den unterschiedlichen Kampagnen (CON, RVE, NEX). Dargestellt sind  $MW \pm SD$ .

### 4.3 Stickstoffbilanz

Abbildung 4.7 zeigt die Differenz zur Baseline der Stickstoffbilanz, berechnet aus Stickstoffaufnahme und renaler Stickstoffausscheidung, in der Interventions- und Erholungsphase. Lediglich die Kontrollkampagne wies eine deutlich negative Stickstoffbilanz in der Interventionsphase ( $p < 0,0001$ ) im Vergleich zur Baseline auf. Die Bilanz in der Adaptationsphase war positiv und lag bei  $1,63 \pm 1,62$  g/d. Die mittlere Stickstoffbilanz war bis Tag 17/18 der Interventionsphase leicht negativ und betrug  $-1,00 \pm 1,81$  g/d, d. h. die Stickstoffausscheidung im Urin war größer als die Stickstoffaufnahme über die Nahrung. Am Ende der Interventionsphase war die Stickstoffbilanz wieder leicht positiv und betrug  $0,57 \pm 1,68$  g/d. Die statistische Auswertung zeigte einen signifikanten Unterschied in den drei Kampagnen (Abbildung 4.7;  $p < 0,0001$ ).

Die statistische Analyse der Erholungsphase zeigte einen Anstieg und somit positive Stickstoffbilanz in RVE ( $p = 0,003$ ) von  $2,13 \pm 2,35$  g/d im Vergleich zur Adaptationsphase. Die Kontroll- und NEX-Kampagne zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Baseline (Abbildung 4.7;  $p = 0,061$ ;  $p = 0,083$ ).

## Ergebnisse

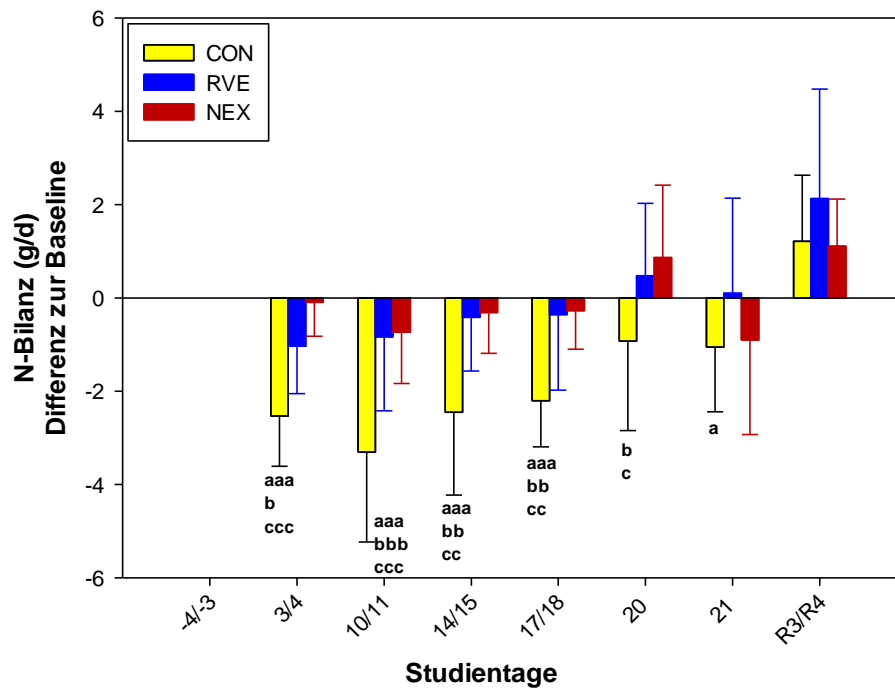


Abbildung 4.7: Stickstoff-Bilanz (g/d) in der Interventions- und Erholungsphase in den drei Kampagnen  
Dargestellt sind MW  $\pm$  SD der 8 Probanden als Differenz zur Baseline (MW Tag -4/-3). ANOVA: a: signifikanter Anstieg in der Kontrollkampagne (a:  $p < 0,05$ ; aa:  $p < 0,01$ ; aaa:  $p < 0,001$ ), b: signifikanter Unterschied zwischen Kontrollkampagne und Trainingskampagne (RVE) (b:  $p < 0,05$ ; bb:  $p < 0,01$ ; bbb:  $p < 0,001$ ) und c: signifikanter Unterschied zwischen Kontrollkampagne und Trainings- plus Molken- und  $\text{KHCO}_3$ -Supplementationskampagne (NEX) (c:  $p < 0,05$ ; cc:  $p < 0,01$ ; ccc:  $p < 0,001$ )

Bei einem Stickstoffgehalt von 16% errechnen sich daraus  $-78,0 \pm 56,7$  g kumulative Proteinverluste für die Kontrollkampagne während der Interventionsphase und  $-12,9 \pm 56,1$  g und  $-9,0 \pm 44,5$  g in der RVE- und NEX-Kampagne.

## 5 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde erstmals die Auswirkung eines Kraft- und Vibrationstraining in Kombination mit einer Supplementation von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  auf den durch Bettruhe induzierten Knochenabbau bei gesunden Männern untersucht. Beide Interventionen während Bettruhe, Nährstoffsupplementation in Form von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  zusammen mit Ganzkörperkraftvibrationstraining, wie das Ganzkörperkraftvibrationstraining alleine, führten zu einer niedrigeren Knochenresorptionsrate in Immobilität als die Kontrollkampagne. Die Nährstoffsupplementation während des Kraft- und Ganzkörpervibrationstraining hat diesen Effekt nicht verändert. Die Ergebnisse zeigen, dass bereits zwei Trainingseinheiten pro Woche zum Erhalt bzw. Senken der Knochenresorptionsrate führen. Armbrrecht et al. (Armbrrecht *et al.* (2010)) konnten in einer 56-tägigen Bettruhestudie jedoch mit elf Trainingseinheiten pro Woche, ähnliche Effekte auf die Knochenresorption beobachten. Übereinstimmend wurde hier ein vergleichbares Kraft- und Vibrationstraining durchgeführt, mit geringfügig anderen Trainingsbedingungen. Bei Armbrrecht et al. wurde das Wiederholungsmaximum direkt mit einer maximalen Wiederholung bestimmt, während in der vorliegenden Studie eine Berechnung (Berger (1961)) an Hand des submaximalen Maximums erfolgte. Das Berechnen des maximalen Wiederholungsmaximums hat den Vorteil, dass das Verletzungsrisiko gesenkt wird. Allerdings wird somit nur ein theoretischer Richtwert berechnet. Gleichzeitig wurde in der vorliegenden Studie eine minimal höhere Frequenz von 25 Hz gegenüber 24 Hz verwendet und die Kniebeuge kontinuierlich bei 75% des 1-RM durchgeführt, während Armbrrecht et al. diese ab dem 3. Tag der Bettruhe auf 80% des 1-RM steigern. Folglich erzielte das in dieser Studie angewandte Ganzkörpervibrationstraining mit zwei Trainingseinheiten pro Woche eine ähnliche Wirkung auf die Knochenresorptionsrate wie elf Trainingseinheiten pro Woche vorheriger Studien.

Die Nährstoffsupplementation in Form von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  während des Kraft- und Vibrationstrainings hat keinen additiven Effekt erzielt und konnte die Senkung der immobilisationsbedingt erhöhten Knochenresorptionsrate nicht weiter steigern. Jedoch scheint die Supplementation von 90 mmol  $\text{KHCO}_3$  pro Tag eine weitere Steigerung der Knochenresorption, welche potentielle Folge der hohen Proteinzufuhr von 1,8 g/kg KG/d sein kann, verhindert zu haben. In aktuellen Ergebnissen einer 60-tägigen Bettruhestudie an Frauen führte eine erhöhte Proteinzufuhr von 1,8 g/kg KG/d zu einer 30%igen und 5%igen Steigerung der Knochenresorptionsmarker CTX und NTX (Heer (2015)). Dabei wird angenommen, dass die vermehrte Zufuhr von tierischem Protein, bei gleichzeitig geringer Zufuhr an Basenvorläufern, und somit schwefelhaltigen Aminosäuren, die im

Intermediärstoffwechsel der Leber zu starken Säuren abgebaut werden (Wasserstoff- und Sulfation), zur konsekutiven Aktivierung von Puffersystemen führt. Hierbei scheint neben den zentralen Puffersystemen im Extrazellulärraum sowie der Lunge auch die Regulation des pH-Wertes durch die Niere und den Knochen eine Rolle zu spielen. Eine kürzlich veröffentlichte *in vivo* Studie mit Mäusen (Bounoure *et al.* (2014)) wies eine 10-fache Steigerung der Ammoniumkonzentration im Urin nach neun Tagen hoher Proteinzufuhr (50 E%) auf. Diese erhöhte Ammoniumkonzentration wurde durch schwefelhaltige Aminosäuren und durch eine Stimulation der Expression von Enzymen und Transportern, welche die Ammonium-Reabsorption in den Tubuluszellen vermitteln, ausgelöst. Ferner scheint das Protein Rhcg (Rhfamily, C glycoprotein), welches in den Tubuluszellen der Niere gebildet wird, eine zentrale Rolle zu spielen. Rhcg ist erforderlich für die Ausscheidung von Ammoniak. Ammoniak wird zusammen mit Wasserstoff-Ionen ausgeschieden, die im Urin Ammonium bilden und somit gilt die Ammoniumkonzentration als Maß für die Menge gebundener Wasserstoffionen (Guyton & Hall (2000)). Frühere tierexperimentelle Studien (Biver *et al.* (2008)) zeigen bereits, dass Rhcg-Knock-Out-Mäuse weniger Wasserstoffionen eliminieren. In Anlehnung daran konnten Bounoure *et al.* (Bounoure *et al.* (2014)) aufzeigen, dass die erhöhte Säurelast bedingt durch eine erhöhte Zufuhr an schwefelhaltigen Aminosäuren, mit einer Aktivierung von Rhcg zur Elimination von Ammoniumionen assoziiert ist. Des Weiteren konnten die Forscher eine Steigerung der Calciumexkretion sowie der Knochenresorption beobachten. Für einen ausgeglichenen Säuren-Basen-Haushalt ist somit die vermehrte Zufuhr von Basenbildnern wie alkalischen Mineralsalzen erforderlich. In Anlehnung daran zeigen Ergebnisse von Maurer und Sebastian *et al.* in Untersuchungen an Menschen (Maurer *et al.* (2003); Sebastian *et al.* (1994)) eine Senkung der knochenabbauenden Marker durch die Supplementation mit Alkalisalzen. Zusätzlich reduziert eine Gabe von alkalischen Kaliumsalzen die Calciumexkretion (Lemann, Jr. *et al.* (1991); Morris, Jr. *et al.* (1999); Lemann, Jr. *et al.* (1989)). In der vorliegenden Studie erfolgte die Supplementation von 90 mmol  $\text{KHCO}_3$  pro Tag als knochenprotektive Maßnahme, um die gesteigerte Säurelast, bedingt durch die hohe Proteinzufuhr von 1,8 g Protein pro Tag, zu kompensieren. Wie auch von Heer *et al.* (Heer *et al.* (2013)) beschrieben, führte die Supplementation von  $\text{KHCO}_3$  zu keiner weiteren Steigerung der Knochenabbaurate unter hoher Proteinzufuhr. Zusätzlich zeigen die hier dargelegten Ergebnisse bei Gabe von  $\text{KHCO}_3$  eine deutliche Reduktion der Netto-Säureausscheidung auf durchschnittlich 43 mEq/d in Immobilität. Diese Alkalisierung ist auf eine verringerte Ausscheidung titrierbarer Säuren und eine erhöhte Ausscheidung von  $\text{HCO}_3^-$  zurückzuführen. Aktuelle Ergebnisse einer Metaanalyse bekräftigen diese Ergebnisse. So zeigte die Metaanalyse von Lambert *et al.* (Lambert *et al.* (2015)) in Männern und Frauen ebenfalls eine Reduktion der NAE durch die

Supplementation mit  $\text{KHCO}_3$  sowie eine Senkung des Knochenresorptionsmarkers NTX, während kein Effekt auf die Knochenformation beobachtet wurde.

In Anlehnung an frühere Beobachtungen von Remer et al. (Remer & Manz (1994); Remer & Manz (1995); Remer *et al.* (2003)) korrelierte die potentielle renale Säurelast der Diät (PRAL) eng mit der Netto-Säureausscheidung im Urin. Die Kombination von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  in der präsentierten Studie erzeugte eine Säurelast von -46 mEq/d, welches nahezu der gemessenen NAE entspricht. Der Effekt einer Kompensation der Säurelast durch  $\text{KHCO}_3$  spiegelt sich ebenfalls in Ergebnissen der Calciumexkretion wieder. So führte die Gabe von 1,8 g/kg KG Protein pro Tag kombiniert mit  $\text{KHCO}_3$  zu keiner weiteren Steigerung der renalen Calciumexkretion. Diese Beobachtungen unterstreichen die Ergebnisse aus der aktuellen Literatur. Kurz- und Langzeituntersuchungen bei gesunden, postmenopausalen Frauen (Sebastian *et al.* (1994); Dawson-Hughes *et al.* (2009); Sakhaee *et al.* (2005)) sowie älteren Männern (Dawson-Hughes *et al.* (2009)) und postmenopausalen Frauen mit Osteopenie (Jehle *et al.* (2006)) konnten eine Senkung der renalen Calciumexkretion durch die Gabe von Kaliumsalzen nachweisen. Des Weiteren zeigten Frassetto et al. an 170 postmenopausalen Frauen mit der Gabe von 30, 60 oder 90 mmol  $\text{KHCO}_3$ /d über 36 Monate eine dosisabhängige Abnahme der renalen Calciumexkretion im 24h-Urin (Frassetto *et al.* (2005)).

Bisherige Studien beobachteten eine Steigerung der Calciumexkretion bei einer erhöhten Proteinzufuhr (Cao & Nielsen (2010); Kerstetter *et al.* (2001); Heaney & Recker (1994); Heaney *et al.* (1982)). Der zugrundeliegende Mechanismus wurde bisher noch nicht vollständig geklärt. Jedoch wird im Allgemeinen eine Steigerung der glomerulären Filtrationsrate (Schuette *et al.* (1980); Kerstetter *et al.* (1998)) sowie eine gesenkte tubuläre Calciumreabsorption als Mechanismus für die erhöhte Calciumexkretion beschrieben (Schuette *et al.* (1980)). Laut Remer et al. (Remer *et al.* (2014)) spielt die PRAL einer Diät eine wichtige Rolle bei der durch eine erhöhte Proteinzufuhr einhergehende Calciurie. Ursache dafür scheint entsprechend der Autoren der katabole Effekt einer zu hohen Proteinzufuhr und einer zu säurelastigen Diät zu sein. Demnach können negative Effekte auf den Knochen durch eine proteinreiche Diät, bei gleichzeitiger Alkalisierung der Diät sowie eine hohe Zufuhr an Kalium und einer geringen Phosphoreinnahme, verhindert werden. In der hier vorliegenden Arbeit scheint genau dieser Effekt erzielt worden zu sein. In Anlehnung an Remer et al. 2014 könnte hierfür als weitere Ursache für das Verhindern einer weiteren Steigerung der Calciumexkretion, der relativ basische PRAL der Diät während der Interventionsphase verantwortlich sein. In der vorliegenden Studie führte die hohe Zufuhr an Kalium von durchschnittlich 4162 mg/d und gleichzeitig geringe Zufuhr an Phosphor von durchschnittlich



1358 mg/d zu einer relativ alkalischen Diät. Die Diät der Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$ -supplementierten Kampagne lieferte insgesamt mehr Basenvorläufer, was sich in dem PRAL von -57 mEq/d widerspiegelt. Auch die Kontroll- und Trainingskampagne lieferte eine nur leicht säurelastige PRAL von 6 und 5 mEq/d in Immobilisation. Eine westliche Ernährungsweise liefert mit 50-100 mEq/d üblicherweise deutlich mehr Säurevorläufer (Sebastian *et al.* (2002); Vormann & Remer (2008)). Die insgesamt mehr Basenvorläufer liefernde Diät dieser Studie in der Kontroll- und Trainingskampagne wirkte sich demnach eher knochenprotektiv aus. Einen weiteren Einfluss hatte die Versorgung mit Calcium: Shapses *et al.* (Shapses *et al.* (1995)) beobachteten trotz hoher Proteinzufuhr von 2,71 g/kg KG/d, mit gleichzeitig höherer Zufuhr als die Empfehlungen an Calcium (~1600 mg/d), keinen Einfluss auf die Calciumexkretion und die Auswirkung auf DPD als Knochenresorptionsmarker. In der vorliegenden Studie lag die durchschnittliche Zufuhr von Calcium bei 1118 mg pro Tag und scheint daher eine zusätzliche knochenprotektive Wirkung gehabt zu haben.

Wie erwartet und wie in vielen anderen Studien beschrieben (Heer *et al.* (2005); Baecker *et al.* (2003); Arnaud *et al.* (1992); Pedersen *et al.* (1995); Zerwekh *et al.* (1998); Lueken *et al.* (1993)), kam es in der vorliegenden Studie zu einer immobilisationsbedingten Steigerung der Knochenabbaurate. Dabei kam es zu einem 88%igen und 41%igen Anstieg der Knochenabbaumarker CTX und NTX. Wie bereits gezeigt wurde, setzt die Zunahme der Knochenresorption bereits nach 48h Immobilität ein (Baecker *et al.* (2003); Heer *et al.* (2005)). Einen ähnlich schnellen Effekt auf die Knochenresorptionsmarker hat Aktivität. So sank die Exkretion von CTX und NTX von Tag 21 in Immobilisation zu Tag 3 / 4 der Regeneration um 42% und 22%.

Die Betrachtung der Knochenformationsmarker lieferte unterschiedliche Ergebnisse: Während das alleinige Kraft- und Vibrationstraining in Immobilität zu einer Abnahme des Knochenaufbaumarkers PINP führte, kam es zu einem Anstieg der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase um 17% gegen Ende der Immobilisation. Bisherige Ergebnisse in Immobilität zeigen einen Anstieg der knochenaufbauenden Marker bAP und / oder PINP durch Krafttraining allein oder in Kombination mit Vibrationstraining (Armbrecht *et al.* (2010); Wang *et al.* (2012)). Wang *et al.* (Wang *et al.* (2012)) beobachteten bei sieben gesunden Männern eine 40%ige Steigerung von bAP nach 60 Tagen Kopftieflage mit täglichem Kraft- und Vibrationstraining. In Anlehnung daran konnten Shackelford *et al.* (Shackelford *et al.* (2004)) in einer 17-wöchigen horizontalen Bettruhestudie eine Steigerung von 64% in bAP nachweisen. Verglichen wurden hier neun Männer und Frauen, die sechs Tage pro Woche ein Krafttraining ausübten, während acht Kontroll-Probanden alleinige Bettruhe verordnet

bekamen. Es ist denkbar, dass die Unterschiede in den hier aufgeführten Ergebnissen durch die unterschiedliche Trainingsfrequenz erklärt werden können. Während bisherige Studien nahezu täglich trainierten (Wang *et al.* (2012); Armbrrecht *et al.* (2010); Shackelford *et al.* (2004)), fand in der hier beschriebenen Studie das Training lediglich zweimal pro Woche statt. Scheinbar sind höhere Trainingsfrequenzen erforderlich, um die Knochenformationsrate zu steigern. Da die Intensität des Trainings bisheriger Studien vergleichbar zu der in der hier vorliegenden Studie ist, kann dieser Einfluss nahezu ausgeschlossen werden. Allerdings könnte die Dauer der Interventionsphase Einfluss nehmen auf die Effektivität des Kraft- und Vibrationstrainings. Bisherige Untersuchungen beobachteten den knochenaufbauenden Effekt eines Kraft- und / oder Vibrationstrainings über einen längeren Zeitraum von bis zu 17 Wochen. Wang *et al.* (Wang *et al.* (2012)) konnten so erst an Tag 30 in Bettruhe einen signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und RVE-Trainingskampagne in der bAP-Konzentration nachweisen. Demnach sind drei Wochen möglicherweise nicht ausreichend um eine deutliche Wirkung des Kraft- und Vibrationstrainings auf die Knochenformation aufzuzeigen.

Die Kombination von Molkenprotein- und  $\text{KHCO}_3$ -Supplementation mit Kraft- und Vibrationstraining wies keinen Effekt auf die Knochenaufbaumarker PINP und bAP in Immobilität auf. Die Supplementation mit Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  während des Trainings hatte keinen Effekt auf die knochenspezifische alkalische Phosphatase in der RVE-Kampagne. Unter der Annahme, dass die durch bAP katalysierte Einlagerung von Phosphatkristallen durch die Nährstoffsupplementation kompensiert wurde, stellt sich nun die Frage, über welche Mechanismen dies zu einem Senken der Aktivität der alkalischen Phosphatase führen kann. Nach bisherigem Kenntnisstand konnte dies bislang noch nicht beobachtet werden. Ballard *et al.* (Ballard *et al.* (2006)) untersuchten den Einfluss eines Kraft- und Ausdauertrainings (5 Mal pro Woche) in Kombination mit 2,2 g Protein gegenüber 1,1 g Protein/kg pro Tag auf den Knochenstoffwechsel von Frauen und Männern im Alter von 18-25 Jahren. Beide Gruppen wiesen eine erhöhte Knochenformations- (bAP) und Knochenresorptionsrate (NTX) nach sechs Monaten auf. Dabei führte die höhere Proteinzufuhr von 2,2 g zu einem tendenziell höheren Anstieg an bAP sowie einer signifikant höheren NTX-Exkretion. Die NTX-Exkretion sank jedoch nach den sechs Monaten in beiden Gruppen zum Ausgangsniveau. Daraus schlussfolgern die Autoren, dass ein Kraft- und Ausdauertraining in Kombination mit einer höheren Proteinaufnahme die Knochenformation steigert. Allerdings fehlte hier der Vergleich zu einer Kontrollgruppe in der kein Training durchgeführt wurde. Mullins *et al.* (Mullins & Sinning (2005)) hingegen konnten keine Steigerung der Knochenformation (bAP) durch Hochintensitäts-Krafttraining alleine, oder in Kombination mit einer Proteinzufuhr von 2,4 g/kg KG/d in jungen Frauen (18-30 Jahre) aufzeigen. Somit ist nach bisherigem Literaturstand

unklar wodurch die in dieser Studie beobachtete Senkung der alkalischen Phosphatase unter Supplementation mit Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  hervorgerufen wurde.

Einen weiteren Einfluss auf den Knochenumbau in Inaktivität hat die Art und Dauer der mechanischen Belastung vor der Immobilisation. Dabei bewirkt Krafttraining durch Steigerung der Muskelkraft / -masse eine stärkere Verformung des Knochens, was zu einem gesteigerten Knochenaufbau bzw. -umbau führt (Bolam *et al.* (2013)). Gleichzeitig könnte diese Aktivierung des Knochenumbaus vor der Immobilisation einen stärkeren Knochenumbau in Immobilität und somit eine potenzierte Knochenresorptionsrate nach sich ziehen. Im Umkehrschluss könnte dauerhafter Bewegungsmangel eine Adaptation des Knochens an die geringe mechanische Belastung bewirken, so dass dies möglicherweise eine vergleichsweise geringere Knochenresorptionsrate in Immobilität hervorruft. Folglich sind valide Erhebungsmaßnahmen des Aktivitätsniveaus zu Beginn einer Studie von zentraler Bedeutung. Dabei stellt die Erhebung des Aktivitätslevel auf Grund vieler verschiedener Methoden, insbesondere in Hinblick auf den Muskel- und Knochenstoffwechsel, eine Herausforderung dar. So existiert derzeit keine Methode, die präzise alle Formen der Alltagsaktivitäten erfassen kann (Müller, C *et al.* (2010)). In der vorliegenden Studie wurde die maximale Sauerstoffaufnahme als leistungsphysiologischer Beobachtungsparameter zur Vergleichbarkeit des Aktivitätsniveaus herangezogen und standardisiert ( $\geq 35$  bzw.  $30 \text{ ml/min/kg}$  bei  $< 35$  bzw.  $> 30$  Jahren). Die  $\text{VO}_{2\text{max}}$  definiert das obere Limit des kardiopulmonalen Systems und gilt als Standardmessgröße der aeroben Leistungsfähigkeit. Sie dient der Einschätzung des Ausdauertrainingszustandes. Die mittlere  $\text{VO}_{2\text{max}}$  der acht Probanden lag hierbei mit durchschnittlich  $39 \text{ ml/min/kg}$  innerhalb des Normbereichs für Männer im Alter von 20-45 Jahren ( $35\text{-}50 \text{ ml/min/kg}$ ) ((ACMS 2006)).  $\text{VO}_{2\text{max}}$  ist jedoch ein Maß für die Ausdauerleistungsfähigkeit und lässt keine Schlussfolgerung auf die mechanische Belastung zu. Demnach können unterschiedliche Aktivitätsniveaus bzw. unterschiedliche Grade an mechanischer Belastung der Probanden zu Studienbeginn nicht ausgeschlossen werden. In zukünftigen Studien wäre damit eine valide Erhebungsmaßnahme, mit der die mechanische Belastung gemessen werden kann, sinnvoll. In Hinblick auf den Knochenstoffwechsel sollte hierbei neben der Messung der Beschleunigung durch Akzelerometer, wie Actigraph oder ADL-Monitore, eine Erfassung der Intensität und mechanischen Belastung der Aktivität erfolgen.

Immobilisationsbedingte Stickstoffverluste wurden durch beide Interventionen, alleiniges Kraft- und Vibrationstraining sowie in Kombination mit der Nähstoffsupplementation verhindert. In beiden Kampagnen wurde durch diese Interventionen sogar eine positive und leicht erhöhte

Stickstoffbilanz nach der Immobilisation induziert: Eine um 451% und 112% gesteigerte N-Bilanz im Vergleich zu vor der Immobilisation. Demzufolge wirkt das Kraft- und Vibrationstraining dem immobilisationsbedingten Stickstoffverlust und somit möglicherweise dem Abbau von Muskelprotein entgegen. Hervorzuheben ist hierbei, dass scheinbar zwei Trainingseinheiten pro Woche ausreichen um dem immobilisationsbedingten Muskelabbau entgegenzuwirken, wenngleich hierfür Untersuchungen der MPS fehlen. Die protektive Wirkung eines Trainings auf den Muskel wurde bereits in anderen Kopftieflage-Studien beobachtet. Dabei bewirkte sowohl die Kombination von Kraft- und Ausdauertraining (Beller *et al.* (2011); Trappe *et al.* (2007)) als auch Vibrationstraining (Salanova *et al.* (2014); Belavy *et al.* (2011a)) eine Senkung der immobilisationsbedingten Atrophie der Skelettmuskulatur. Wie erwartet und wie in anderen Bettruhestudien beschrieben (Kortebein *et al.* (2007); Scheld *et al.* (2001)), führte im Vergleich dazu die Immobilisation in der Kontrollkampagne zu einer leicht negativen Stickstoffbilanz, mit einem Maximum der Stickstoffausscheidung nach achtzehn Tagen. So entstand kumulativ über den Zeitraum von 21 Tagen ein renaler Proteinverlust in Höhe von 78 g. Dies entspricht 364 g effektiver Muskelverluste (Sefrin (1981)), was im Vergleich zur Studie von Scheld *et al.* (Scheld *et al.* (2001)), mit einem Proteinverlust von 32 g/d nach zwei Wochen, einem relativ hohen Muskelverlust entspricht. Ursache dafür könnte auch hier das unterschiedliche Aktivitätsniveau der Probanden sein. Die Studienteilnehmer von Scheld *et al.* wiesen ein moderates Aktivitätsniveau auf, von durchschnittlich 4h Aktivität pro Woche (retrospektiver Fragebogen). Denkbar wäre, dass die Probanden der vorliegenden Studie ein höheres Aktivitätsniveau aufzeigen. Folglich führte die Immobilisation und damit geringere mechanische Belastung des Knochengewebes zu einem stärkeren Knochenabbau sowie linearen Muskelabbau als bei den Probanden von Scheld *et al.* mit moderatem Aktivitätsniveau. In Anlehnung daran konnten Scheld *et al.* nach zwei Wochen Bettruhe eine Steigerung der NTX-Exkretion von 26% beobachten, während sie in der vorliegenden Studie um 41% anstieg. Laut aktueller Literaturaussage (Burd *et al.* (2012); Paddon-Jones *et al.* (2006); Pennings *et al.* (2011); Witard *et al.* (2014); Yang *et al.* (2012)) steigert Molkenprotein die MPS, was möglicherweise zum Erhalt von Muskelmasse führt. Folglich wurde in der vorliegenden Studie ein Erhalt der Muskelmasse bedingt durch die Supplementation von Molkenprotein erwartet. Generell kann die Stickstoffbilanz als grobes Maß für die Ermittlung von Muskelproteinveränderungen betrachtet werden. Auch wenn in der vorliegenden Studie keine Unterschiede zwischen den Interventionen beobachtet wurden, konnten die immobilisationsbedingten Stickstoffverluste durch beide Interventionen verhindert werden. Allerdings konnte die Supplementation von Molkenprotein bzw. 1,8 g Protein pro kg KG pro Tag und  $\text{KHCO}_3$  diesen Effekt nicht weiter steigern. Ähnliche Effekte einer erhöhten

Proteinzufuhr auf den Muskel wurden in einer 60-tägigen Bettruhestudie an Frauen beobachtet. Hierbei konnte die erhöhte Proteinzufuhr von 1,8 g/kg KG/d den immobilisationsbedingten Verlust an Muskelfasergröße (Trappe *et al.* (2007)) und -masse (Beller *et al.* (2011)) ebenfalls nicht kompensieren.

Ein weiterer Einflussfaktor auf den Knochenstoffwechsel stellt die Ernährung und hierbei insbesondere die Versorgung mit Vitamin D und Calcium, bei gleichzeitig geringer Säurelast der Diät, dar. In der vorliegenden Studie erfolgte eine täglich konstante Makro- und Mikronährstoffzufuhr (s. Tabelle 3.2), welche individuell auf jeden Probanden angepasst wurde. Dabei erhielten die Probanden in allen drei Kampagnen identische Mahlzeiten. Diese extrem kontrollierten Studienbedingungen ermöglichen einen weitest gehenden Ausschluss dieser Einflussfaktoren und eine genaue Betrachtung der hier erfolgten Maßnahmen auf den Knochenstoffwechsel.

### 5.1 Schlussfolgerung und Ausblick

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass Kraft- und Vibrationstraining alleine sowie in Kombination mit einer Nährstoffsupplementation in Form von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  die immobilisationsbedingte Steigerung der Knochenresorptionsrate verringert. Darüber hinaus konnte die Knochenformationsrate durch das Training gesteigert werden und immobilisationsbedingte Stickstoffverluste durch beide Interventionen verhindert werden. Eine alternde Bevölkerung und die sich verändernde Lebensweise, gekennzeichnet durch Bewegungsarmut und vorwiegend säurehaltige Lebensmittel, steigert langfristig das Auftreten von altersbedingten Erkrankungen wie inaktivitätsbedingter Sarkopenie und Osteoporose. Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Ergebnisse geben einen ersten Einblick in mögliche neue Präventions- und Therapiemaßnahmen des inaktivitätsbedingten Knochenabbaus im Alter. Das in dieser Studie angewandte 25-minütige Kraft- und Vibrationstraining stellt beispielsweise eine nur mit geringem Zeitaufwand verbundene Trainingsmaßnahme dar. Hervorzuheben ist hierbei, dass das in der hier vorliegenden Arbeit durchgeführte Training trotz abgeschwächter und geringerer Häufigkeit ähnliche Ergebnisse wie bisherige Studien mit vergleichbarer Trainingsintensität lieferte. Allerdings sollte hierbei die Belastung und Intensität dieses Ganzkörperkraftvibrationstrainings sowie die Alltagstauglichkeit und Anwendbarkeit für solch vulnerable Gruppen berücksichtigt werden. Ein vorwiegend inaktiver Lebensstil geht mit Verlusten von Muskel- und Knochenmasse und gleichzeitig einer geringeren maximalen Knochendichte (*peak bone mass*) einher. Somit ist fraglich inwieweit Menschen mit

mangelnder körperlicher Aktivität dieser enormen mechanischen Belastung und hohen Ausdauerleistung des hier dargestellten Ganzkörperkraftvibrationstrainings gewachsen sind. Es wäre denkbar, dass das hier dargestellte Training möglicherweise einen zu großen Stimulus auf den bereits geschwächten Knochen körperlich inaktiver Menschen ausübt und womöglich mit einem erhöhten Risiko für Frakturen einhergeht. Gleichzeitig stellt sich die Frage der Implementierung für eine alternde Bevölkerung, als weitere Risikogruppe, auf Grund von Komorbiditäten sowie steigender Fragilität während des Alterungsprozess.

Zu dem enthält eine typische „westliche“ Ernährungsweise vornehmlich Säure-produzierende Lebensmittel wie Fleisch, Käse und Getreide, bei gleichzeitig geringer Zufuhr Basen-liefernder Komponenten wie Obst und Gemüse. Dies führt zu einer gesteigerten endogenen Säurennettoproduktion, was langfristig das Risiko für die Entstehung und Entwicklung einer Osteoporose erhöhen kann. So zeigen aktuelle Forschungsergebnisse, dass eine hohe Proteinzufuhr von 1,8 g/kg KG/d die immobilisationsbedingte Knochenresorption steigert. Laut aktueller Literaturaussage wirkt sich eine basische Kost bzw. eine Supplementation mit Alkalisalz hingegen protektiv auf den Knochen aus. Ungeachtet dessen, dass in der vorliegenden Studie der alleinige Effekt einer  $\text{KHCO}_3$ -Supplementation nicht untersucht werden konnte, wäre eine Kompensation der gesteigerten Knochenresorption durch die Zufuhr von 90 mmol  $\text{KHCO}_3$  denkbar. Folglich wurde in der hier vorliegenden Studie keine weitere Steigerung der Knochenresorption, trotz hoher Proteinzufuhr von 1,8 g/kg KG/d, beobachtet. Somit lassen sich potenzielle, durch eine erhöhte Säurelast der Nahrung bedingte, negative Effekte auf den Knochen durch die Zufuhr eines alkalischen Salz bzw. eine hohe Zufuhr an Basen-liefernden Komponenten möglicherweise maßgeblich kompensieren.

Wie beschrieben (s. 2.3) wird derzeit bei älteren Menschen und für Menschen mit Bewegungsmangel, ein höherer Bedarf an Protein als der bisherigen Empfehlung von 0,8 g/kg KG/d diskutiert bzw. bereits empfohlen. Dabei sind eine adäquate Proteinzufuhr und die Aufrechterhaltung einer ausgeglichenen Stickstoffbilanz für Menschen über 60 Jahren besonders wichtig, da aufgrund der altersbedingten Abnahme des Proteingehalts und die häufig auftretende Mangelernährung, das Risiko für eine altersbedingte Sarkopenie und Osteoporose gesteigert wird. Aus den hier gewonnenen Ergebnissen lassen sich keine negativen Wirkungen auf den Knochen, trotz hoher Proteinzufuhr von 1,8 bzw. 1,2 g/kg KG/d, ableiten. Allerdings sind solch hohe Proteinzufuhren bei Senioren auf Grund der konsequenten Abnahme der Nierenfunktion, kritisch zu betrachten und sollten nur unter klinischer Aufsicht und Berücksichtigung von Kontrollparametern untersucht werden. Gleichzeitig wäre hier eine Betrachtung und Untersuchung der hohen Proteinzufuhr auf andere physiologische Systeme

## Diskussion

sowie Stoffwechselvorgänge interessant. Des Weiteren wurden immobilisationsbedingte Stickstoffverluste in der vorliegenden Studie durch beide Interventionen verhindert. Man könnte spekulieren, dass das Kraft- und Vibrationstraining zu einem Erhalt der Muskelmasse führte, wenngleich hierzu entsprechende Erhebungen fehlen. Diese Schlussfolgerungen müssen dementsprechend an geeigneten Kollektiven und unter Berücksichtigung weiterer Biomarker bestätigt und weiter untersucht werden. Hier wäre neben der Erhebung von Parametern des Knochenstoffwechsels die Betrachtung von Biomarkern die den Proteinumsatz beschreiben in zukünftigen Studien sicherlich sinnvoll.

## 6 Zusammenfassung

*Hypothesen:* In der vorliegenden Studie, wurde der Effekt einer Supplementation in Form von Molkenprotein und Kaliumbicarbonat ( $\text{KHCO}_3$ ) in Kombination mit einem Kraft- und Vibrationstraining auf den durch Bettruhe induzierten Knochenabbau bei gesunden Männern untersucht. Hierbei wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

- i. Die Kombination von Kraft- und Vibrationstraining mit Molkenprotein- und Kaliumbicarbonatgabe führt zu einer gesteigerten Knochenformation.
- ii. Eine Kombination von Kraft- und Vibrationstraining mit Molkenprotein- / Kaliumbicarbonatsupplementation kompensiert die durch Bettruhe hervorgerufene gesteigerte Knochenresorption

*Methodik:* Die vorliegende Studie ist stationär im randomisierten *cross-over* Design an acht gesunden, männlichen Probanden im Stoffwechsellabor des Instituts für Raumfahrtmedizin und Physiologie durchgeführt worden. Die Studie gliederte sich in 3 Studienkampagnen à 34 Tagen. Die 21-tägige Interventionsphase in 6° Kopftieflage unterteilte sich in eine Trainingskampagne mit Kraft- und Ganzkörpervibrationstraining, eine Kampagne in der das Training mit einer Nährstoffsupplementation von 0,6 g/kg KG/d Molkenprotein und 90 mmol  $\text{KHCO}_3$  pro Tag kombiniert wurde und eine Kontrollkampagne ohne Supplementation und Training. Den Interventionsphasen ging eine ambulante, siebentägige Adaptationsphase voraus, gefolgt von einer sechstägigen, ambulanten Erholungsphase. Die Energie- und Nährstoffzufuhr war bedarfsdeckend und individuell auf jeden Probanden zugeschnitten. Die tägliche Zufuhr der Makronährstoffe sowie von Mikronährstoffen, wie Natrium, Kalium, Calcium und Vitamin D<sub>3</sub> und Wasser war konstant und wurde streng kontrolliert. Als Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels wurden die Knochenresorptionsmarker Carboxyterminales und Aminoterminals Kollagen-Typ-I-Telopeptid (CTX; NTX) sowie die Calciumexkretion im Urin und die Knochenformationsmarker Aminoterminals Propeptid des Typs 1 Prokollagens (PINP) und die knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP) im Serum bestimmt. Als Parameter des systemischen Säuren-Basen-Status wurde die Netto-Säureausscheidung (NAE) im 24h-Urin und die potentielle Säurelast der Diät (PRAL) berechnet. Die Stickstoffbilanz wurde als Differenz aus Stickstoffaufnahme und -ausscheidung im 24h-Urin berechnet.

*Ergebnisse:* Beides, das alleinige Kraft- und Vibrationstraining und die Kombination mit der Nährstoffsupplementation in Form von Molkenprotein und  $\text{KHCO}_3$  führten zu einem Senken der Exkretion des Knochenresorptionsmarkers CTX um 62% ( $p = 0,002$ ) und 66% ( $p = 0,006$ )



## Zusammenfassung

am Ende der Kopftieflage. Der immobilisationsbedingte Anstieg des Knochenresorptionsmarkers NTX wurde durch beide Interventionen ( $p = 0,104$ ;  $p = 0,120$ ) verhindert. Die Calciumexkretion stieg in allen drei Kampagnen während der Bettruhe an und zeigte keine Trainings- bzw. Nährstoffsupplementations-bedingte Veränderung. Die alleinige Kopftieflage, mit und ohne Kraft- und Vibrationstraining führte zu einer Reduktion des Knochenformationsmarkers PINP, dagegen bewirkte die Kombination aus Training und Nährstoffsupplementation keine Veränderung der PINP-Konzentration. Der Knochenformationsmarker bAP blieb während der Kontrollkampagne und der Training- mit Nährstoffsupplementationskampagne weitgehend konstant. Lediglich das alleinige Kraft- und Vibrationstraining führte zu einem Anstieg von 17% am Ende der Kopftieflage. Die NAE war in der  $\text{KHCO}_3$ -supplementierten Kampagne am niedrigsten und lag bei  $5 \pm 15$  mEq/d. Die immobilisationsbedingten Stickstoffverluste konnten durch beide Interventionen verhindert werden ( $p = 0,186$ ;  $p = 0,354$ ).

*Zusammenfassung und Schlussfolgerung:* Die Ergebnisse zeigen, dass eine Kombination von Kraft- und Vibrationstraining die immobilisationsbedingt erhöhte Knochenresorption senkt und gleichzeitig die Knochenformation steigert. Des Weiteren deuten die Ergebnisse auf eine muskelprotektive Wirkung des Kraft- und Vibrationstrainings hin. Die Supplementierung von  $\text{KHCO}_3$  bei gleichzeitig erhöhter Proteinzufuhr konnte möglicherweise einer Protein-bedingten Steigerung der Knochenresorption sowie Calciumexkretion entgegenwirken und bewirkte somit eine Kompensation der Säurelast. Die muskelaufbauende Wirkung von Molkenprotein konnte nicht bestätigt werden, wenngleich nähere Untersuchungen fehlen. Daher sollte in Folgestudien die Langzeitwirkung einer erhöhten Proteinzufuhr auf Biomarker die den Proteinumsatz beschreiben näher untersucht werden. Die in der Studie angewandten Maßnahmen eines Kraft- und Vibrationstrainings und die Nährstoffsupplementierung mit  $\text{KHCO}_3$  sind als mögliche Präventions- und Therapiemaßnahmen für Menschen mit Bewegungsarmut sowie Menschen mit immobilisationsbedingter Sarkopenie und Osteoporose denkbar. Durch die tägliche Einnahme von  $\text{KHCO}_3$  bzw. einer vorwiegend Basenvorläufer-liefernden Diät könnte das Entstehen einer ernährungsbedingten latenten metabolischen Azidose möglicherweise verhindert werden, während ein tägliches Kraft- und Vibrationstraining von 25 Minuten am Tag knochen- und muskelprotektiv wirken könnte. Dabei ist hier vor allem der wenige Zeitaufwand hervorzuheben.

## 7 Literaturverzeichnis

2006 *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. Lippincott Williams & Wilkins.

Abelow BJ, Holford TR & Insogna KL 1992 Cross-cultural association between dietary animal protein and hip fracture: a hypothesis. *Calcif. Tissue Int.* **50** 14-18.

Adeva MM & Souto G 2011 Diet-induced metabolic acidosis. *Clin.Nutr.* **30** 416-421.

Akesson K 1995 Biochemical markers of bone turnover. A review. *Acta Orthop.Scand.* **66** 376-386.

Alexy U, Remer T, Manz F, Neu CM & Schoenau E 2005 Long-term protein intake and dietary potential renal acid load are associated with bone modeling and remodeling at the proximal radius in healthy children. *Am.J.Clin.Nutr.* **82** 1107-1114.

Armbrecht G, Belavy DL, Gast U, Bongrazio M, Touby F, Beller G, Roth HJ, Perschel FH, Rittweger J & Felsenberg D 2010 Resistive vibration exercise attenuates bone and muscle atrophy in 56 days of bed rest: biochemical markers of bone metabolism. *Osteoporos.Int.* **21** 597-607.

Arnaud SB, Sherrard DJ, Maloney N, Whalen RT & Fung P 1992 Effects of 1-week head-down tilt bed rest on bone formation and the calcium endocrine system. *Aviat.Space Environ.Med.* **63** 14-20.

Arnett TR 2008 Extracellular pH regulates bone cell function. *J.Nutr.* **138** 415S-418S.

Arnett TR & Spowage M 1996 Modulation of the resorptive activity of rat osteoclasts by small changes in extracellular pH near the physiological range. *Bone* **18** 277-279.

Baecker N, Tomic A, Mika C, Gotzmann A, Platen P, Gerzer R & Heer M 2003 Bone resorption is induced on the second day of bed rest: results of a controlled crossover trial. *J.Appl.Physiol* (1985.) **95** 977-982.

Bajotto G & Shimomura Y 2006 Determinants of disuse-induced skeletal muscle atrophy: exercise and nutrition countermeasures to prevent protein loss. *J.Nutr.Sci.Vitaminol.(Tokyo)* **52** 233-247.

Ballard TL, Specker BL, Binkley TL & Vukovich MD 2006 Effect of protein supplementation during a 6-month strength and conditioning program on areal and volumetric bone parameters. *Bone* **38** 898-904.

Barzel US 1969 The effect of excessive acid feeding on bone. *Calcif. Tissue Res.* **4** 94-100.

Bauer J, Biolo G, Cederholm T, Cesari M, Cruz-Jentoft AJ, Morley JE, Phillips S, Sieber C, Stehle P, Teta D, Visvanathan R, Volpi E & Boirie Y 2013 Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE Study Group. *J.Am.Med.Dir.Assoc.* **14** 542-559.

Beasley JM, Wertheim BC, LaCroix AZ, Prentice RL, Neuhouser ML, Tinker LF, Kritchevsky S, Shikany JM, Eaton C, Chen Z & Thomson CA 2013 Biomarker-calibrated protein intake and physical function in the Women's Health Initiative. *J.Am.Geriatr.Soc.* **61** 1863-1871.

Belavy DL, Bansmann PM, Bohme G, Frings-Meuthen P, Heer M, Rittweger J, Zange J & Felsenberg D 2011a Changes in intervertebral disc morphology persist 5 mo after 21-day bed rest. *J.Appl.Physiol* (1985.) **111** 1304-1314.

Belavy DL, Beller G, Armbrecht G, Perschel FH, Fitzner R, Bock O, Borst H, Degner C, Gast U & Felsenberg D 2011b Evidence for an additional effect of whole-body vibration above resistive exercise alone in preventing bone loss during prolonged bed rest. *Osteoporos.Int.* **22** 1581-1591.

Belavy DL, Beller G, Ritter Z & Felsenberg D 2011c Bone structure and density via HR-pQCT in 60d bed-rest, 2-years recovery with and without countermeasures. *J.Musculoskelet.Neurol.Interact.* **11** 215-226.

Belavy DL, Bock O, Borst H, Armbrecht G, Gast U, Degner C, Beller G, Soll H, Salanova M, Habazettl H, Heer M, de HA, Stegeman DF, Cerretelli P, Blottner D, Rittweger J, Gelfi C, Kornak U & Felsenberg D 2010 The 2nd Berlin BedRest Study: protocol and implementation. *J.Musculoskelet.Neurol.Interact.* **10** 207-219.

Bell NH, Godsen RN, Henry DP, Shary J & Epstein S 1988 The effects of muscle-building exercise on vitamin D and mineral metabolism. *J.Bone Miner.Res.* **3** 369-373.

Beller G, Belavy DL, Sun L, Armbrecht G, Alexandre C & Felsenberg D 2011 WISE-2005: bed-rest induced changes in bone mineral density in women during 60 days simulated microgravity. *Bone* **49** 858-866.

Berger RA 1961 Determination of the resistance load for 1-RM and 10-RM. *J Assoc Physi Ment Rehab* **15** 108-110.

Biolo G, Ciochi B, Stulle M, Piccoli A, Lorenzon S, Dal M, V, Barazzoni R, Zanetti M & Guarnieri G 2005 Metabolic consequences of physical inactivity. *J.Ren Nutr.* **15** 49-53.

Biver S, Belge H, Bourgeois S, Van VP, Nowik M, Scohy S, Houillier P, Szpirer J, Szpirer C, Wagner CA, Devuyst O & Marini AM 2008 A role for Rhesus factor Rhcg in renal ammonium excretion and male fertility. *Nature* **456** 339-343.

Block JE, Friedlander AL, Brooks GA, Steiger P, Stubbs HA & Genant HK 1989 Determinants of bone density among athletes engaged in weight-bearing and non-weight-bearing activity. *J.Appl.Physiol* (1985.) **67** 1100-1105.

Bogaerts A, Verschueren S, Delecluse C, Claessens AL & Boonen S 2007 Effects of whole body vibration training on postural control in older individuals: a 1 year randomized controlled trial. *Gait.Posture.* **26** 309-316.

Boirie Y, Dangin M, Gachon P, Vasson MP, Maubois JL & Beaufrere B 1997 Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **94** 14930-14935.

Bolam KA, van Uffelen JG & Taaffe DR 2013 The effect of physical exercise on bone density in middle-aged and older men: a systematic review. *Osteoporos.Int.* **24** 2749-2762.

Bonjour JP 2005 Dietary protein: an essential nutrient for bone health. *J.Am.Coll.Nutr.* **24** 526S-536S.

- Bonjour JP 2011 Protein intake and bone health. *Int.J.Vitam.Nutr.Res.* **81** 134-142.
- Bonjour JP 2013 Nutritional disturbance in acid-base balance and osteoporosis: a hypothesis that disregards the essential homeostatic role of the kidney. *Br.J.Nutr.* **110** 1168-1177.
- Bonjour JP, Schurch MA & Rizzoli R 1997 Proteins and bone health. *Pathol.Biol.(Paris)* **45** 57-59.
- Bonjour JP, Theintz G, Law F, Slosman D & Rizzoli R 1994 Peak bone mass. *Osteoporos.Int.* **4 Suppl 1** 7-13.
- Boonen S, Vanderschueren D, Haentjens P & Lips P 2006 Calcium and vitamin D in the prevention and treatment of osteoporosis - a clinical update. *J.Intern.Med.* **259** 539-552.
- Boschmann, M, Rittweger, J, Blanc, S, and Heer, M. Calculation of RMR with resistive vibration exercise (personal communication). 2010.
- Ref Type: Personal Communication
- Bounoure L, Ruffoni D, Muller R, Kuhn GA, Bourgeois S, Devuyst O & Wagner CA 2014 The role of the renal ammonia transporter Rhcg in metabolic responses to dietary protein. *J.Am.Soc.Nephrol.* **25** 2040-2052.
- Brandao-Burch A, Utting JC, Orriss IR & Arnett TR 2005 Acidosis inhibits bone formation by osteoblasts in vitro by preventing mineralization. *Calcif.Tissue Int.* **77** 167-174.
- Burckhardt P, Dawson-Hughes B & Weaver C 2010 Acid-Base Balance, Bone, and Muscle. In *Nutritional influence on bone health*, pp 173-180. Springer.
- Burd NA, Yang Y, Moore DR, Tang JE, Tarnopolsky MA & Phillips SM 2012 Greater stimulation of myofibrillar protein synthesis with ingestion of whey protein isolate v. micellar casein at rest and after resistance exercise in elderly men. *Br.J.Nutr.* **108** 958-962.
- Burton RF 1992 The roles of intracellular buffers and bone mineral in the regulation of acid-base balance in mammals. *Comp Biochem.Physiol Comp Physiol* **102** 425-432.
- Bushinsky DA 1996 Metabolic alkalosis decreases bone calcium efflux by suppressing osteoclasts and stimulating osteoblasts. *Am.J.Physiol* **271** F216-F222.
- Bushinsky DA 2001 Acid-base imbalance and the skeleton. *Eur.J.Nutr.* **40** 238-244.
- Bushinsky DA, Chabala JM, Gavrillov KL & Levi-Setti R 1999 Effects of in vivo metabolic acidosis on midcortical bone ion composition. *Am.J.Physiol* **277** F813-F819.
- Bushinsky DA & Lechleider RJ 1987 Mechanism of proton-induced bone calcium release: calcium carbonate-dissolution. *Am.J.Physiol* **253** F998-1005.
- Bushinsky DA, Wolbach W, Sessler NE, Mogilevsky R & Levi-Setti R 1993 Physicochemical effects of acidosis on bone calcium flux and surface ion composition. *J.Bone Miner.Res.* **8** 93-102.
- Calloway DH 1975 Nitrogen balance of men with marginal intakes of protein and energy. *J.Nutr.* **105** 914-923.

Campbell WW, Crim MC, Dallal GE, Young VR & Evans WJ 1994 Increased protein requirements in elderly people: new data and retrospective reassessments. *Am.J.Clin.Nutr.* **60** 501-509.

Campbell WW, Trappe TA, Wolfe RR & Evans WJ 2001 The recommended dietary allowance for protein may not be adequate for older people to maintain skeletal muscle. *J.Gerontol.A Biol.Sci.Med.Sci.* **56** M373-M380.

Cao JJ, Johnson LK & Hunt JR 2011 A diet high in meat protein and potential renal acid load increases fractional calcium absorption and urinary calcium excretion without affecting markers of bone resorption or formation in postmenopausal women. *J.Nutr.* **141** 391-397.

Cao JJ & Nielsen FH 2010 Acid diet (high-meat protein) effects on calcium metabolism and bone health. *Curr.Opin.Clin.Nutr.Metab Care* **13** 698-702.

Cermak NM, Res PT, de Groot LC, Saris WH & van Loon LJ 2012 Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. *Am.J.Clin.Nutr.* **96** 1454-1464.

Christenson RH 1997 Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin.Biochem.* **30** 573-593.

Coker RH & Wolfe RR 2012 Bedrest and sarcopenia. *Curr.Opin.Clin.Nutr.Metab Care* **15** 7-11.

Colletti LA, Edwards J, Gordon L, Shary J & Bell NH 1989 The effects of muscle-building exercise on bone mineral density of the radius, spine, and hip in young men. *Calcif.Tissue Int.* **45** 12-14.

Cribb PJ, Williams AD, Carey MF & Hayes A 2006 The effect of whey isolate and resistance training on strength, body composition, and plasma glutamine. *Int.J.Sport Nutr.Exerc.Metab* **16** 494-509.

Daly RM, O'Connell SL, Mundell NL, Grimes CA, Dunstan DW & Nowson CA 2014 Protein-enriched diet, with the use of lean red meat, combined with progressive resistance training enhances lean tissue mass and muscle strength and reduces circulating IL-6 concentrations in elderly women: a cluster randomized controlled trial. *Am.J.Clin.Nutr.* **99** 899-910.

Dargent-Molina P, Sabia S, Touvier M, Kesse E, Breart G, Clavel-Chapelon F & Boutron-Ruault MC 2008 Proteins, dietary acid load, and calcium and risk of postmenopausal fractures in the E3N French women prospective study. *J.Bone Miner.Res.* **23** 1915-1922.

Darling AL, Millward DJ, Torgerson DJ, Hewitt CE & Lanham-New SA 2009 Dietary protein and bone health: a systematic review and meta-analysis. *Am.J.Clin.Nutr.* **90** 1674-1692.

Dawson-Hughes B & Harris SS 2002 Calcium intake influences the association of protein intake with rates of bone loss in elderly men and women. *Am.J.Clin.Nutr.* **75** 773-779.

Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA & Dallal GE 1997 Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *N.Engl.J.Med.* **337** 670-676.

Dawson-Hughes B, Harris SS, Palermo NJ, Castaneda-Sceppa C, Rasmussen HM & Dallal GE 2009 Treatment with potassium bicarbonate lowers calcium excretion and bone resorption in older men and women. *J Clin Endocrinol.Metab* **94** 96-102.

Dawson-Hughes B, Harris SS, Rasmussen H, Song L & Dallal GE 2004 Effect of dietary protein supplements on calcium excretion in healthy older men and women. *J.Clin.Endocrinol.Metab* **89** 1169-1173.

Deutz NE, Bauer JM, Barazzoni R, Biolo G, Boirie Y, Bosy-Westphal A, Cederholm T, Cruz-Jentoft A, Krznaric Z, Nair KS, Singer P, Teta D, Tipton K & Calder PC 2014 Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: recommendations from the ESPEN Expert Group. *Clin.Nutr.* **33** 929-936.

DGE, ÖGE & SGE 2015 *D-A-CH Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr*. DGE.

Dillon EL, Sheffield-Moore M, Paddon-Jones D, Gilkison C, Sanford AP, Casperson SL, Jiang J, Chinkes DL & Urban RJ 2009 Amino acid supplementation increases lean body mass, basal muscle protein synthesis, and insulin-like growth factor-I expression in older women. *J.Clin.Endocrinol.Metab* **94** 1630-1637.

Donaldson CL, Hulley SB, Vogel JM, Hattner RS, Bayers JH & McMillan DE 1970 Effect of prolonged bed rest on bone mineral. *Metabolism* **19** 1071-1084.

DVO Leitlinie Osteoporose. S3-Leitlinie des Dachverbands der deutschsprachigen wissenschaftlichen osteologischen Gesellschaften e.V. 2014. Dachverband Osteologie e.V.

Ref Type: Report

English KL & Paddon-Jones D 2010 Protecting muscle mass and function in older adults during bed rest. *Curr.Opin.Clin.Nutr.Metab Care* **13** 34-39.

Ensrud KE, Duong T, Cauley JA, Heaney RP, Wolf RL, Harris E & Cummings SR 2000 Low fractional calcium absorption increases the risk for hip fracture in women with low calcium intake. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann.Intern.Med.* **132** 345-353.

Eriksen EF, Brixen K & Charles P 1995 New markers of bone metabolism: clinical use in metabolic bone disease. *Eur.J.Endocrinol.* **132** 251-263.

Farnfield MM, Carey KA, Gran P, Trenerry MK & Cameron-Smith D 2009 Whey protein ingestion activates mTOR-dependent signalling after resistance exercise in young men: a double-blinded randomized controlled trial. *Nutrients.* **1** 263-275.

Fenton TR, Lyon AW, Eliasziw M, Tough SC & Hanley DA 2009 Meta-analysis of the effect of the acid-ash hypothesis of osteoporosis on calcium balance. *J.Bone Miner.Res.* **24** 1835-1840.

Finck H, Hart AR, Jennings A & Welch AA 2014 Is there a role for vitamin C in preventing osteoporosis and fractures? A review of the potential underlying mechanisms and current epidemiological evidence. *Nutr.Res.Rev.* **27** 268-283.

Frassetto L, Morris RC, Jr. & Sebastian A 2005 Long-term persistence of the urine calcium-lowering effect of potassium bicarbonate in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* **90** 831-834.

Frassetto L, Morris RC, Jr., Sellmeyer DE, Todd K & Sebastian A 2001 Diet, evolution and aging--the pathophysiologic effects of the post-agricultural inversion of the potassium-to-sodium and base-to-chloride ratios in the human diet. *Eur.J.Nutr.* **40** 200-213.

Frassetto LA, Morris RC, Jr. & Sebastian A 1996 Effect of age on blood acid-base composition in adult humans: role of age-related renal functional decline. *Am.J.Physiol* **271** F1114-F1122.

Frassetto LA, Morris RC, Jr., Sellmeyer DE & Sebastian A 2008 Adverse effects of sodium chloride on bone in the aging human population resulting from habitual consumption of typical American diets. *J.Nutr.* **138** 419S-422S.

Frassetto LA, Todd KM, Morris RC, Jr. & Sebastian A 2000 Worldwide incidence of hip fracture in elderly women: relation to consumption of animal and vegetable foods. *J.Gerontol.A Biol.Sci.Med.Sci.* **55** M585-M592.

Frick KK, Krieger NS, Nehrke K & Bushinsky DA 2009 Metabolic acidosis increases intracellular calcium in bone cells through activation of the proton receptor OGR1. *J.Bone Miner.Res.* **24** 305-313.

Frings-Meuthen P, Baecker N & Heer M 2008 Low-grade metabolic acidosis may be the cause of sodium chloride-induced exaggerated bone resorption. *J.Bone Miner.Res.* **23** 517-524.

Frings-Meuthen P, Buehlmeier J, Baecker N, Stehle P, Fimmers R, May F, Kluge G & Heer M 2011 High sodium chloride intake exacerbates immobilization-induced bone resorption and protein losses. *J.Appl.Physiol (1985.)* **111** 537-542.

Frost HM 1960 *The Utah Paradigm of Skeletal Physiology*. ISMNI.

Frost HM 1990 Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *Anat.Rec.* **226** 414-422.

Frost HM 1997 Why do marathon runners have less bone than weight lifters? A vital-biomechanical view and explanation. *Bone* **20** 183-189.

Gaffney-Stomberg E, Insogna KL, Rodriguez NR & Kerstetter JE 2009 Increasing dietary protein requirements in elderly people for optimal muscle and bone health. *J.Am.Geriatr.Soc.* **57** 1073-1079.

GARN SM, ROHMANN CG, BEHAR M, VITERI F & GUZMAN MA 1964 COMPACT BONE DEFICIENCY IN PROTEIN-CALORIE MALNUTRITION. *Science* **145** 1444-1445.

Garnero P & Delmas PD 1997 Bone markers. *Baillieres Clin.Rheumatol.* **11** 517-537.

Garza C, Scrimshaw NS & Young VR 1977 Human protein requirements: a long-term metabolic nitrogen balance study in young men to evaluate the 1973 FAO/WHO safe level of egg protein intake. *J.Nutr.* **107** 335-352.

Garza C, Scrimshaw NS & Young VR 1978 Human protein requirements: interrelationships between energy intake and nitrogen balance in young men consuming the 1973 FAO/WHO safe level of egg protein, with added non-essential amino acids. *J.Nutr.* **108** 90-96.

Gasser JA, Hulter HN, Imboden P & Krapf R 2014 Effect of chronic metabolic acidosis on bone density and bone architecture in vivo in rats. *Am.J.Physiol Renal Physiol* **306** F517-F524.

Gluck SL 1998 Acid-base. *Lancet* **352** 474-479.

Granhed H, Jonson R & Hansson T 1987 The loads on the lumbar spine during extreme weight lifting. *Spine (Phila Pa 1976.)* **12** 146-149.

Guillemant J, Accarie C, Peres G & Guillemant S 2004 Acute effects of an oral calcium load on markers of bone metabolism during endurance cycling exercise in male athletes. *Calcif. Tissue Int.* **74** 407-414.

Gusi N, Raimundo A & Leal A 2006 Low-frequency vibratory exercise reduces the risk of bone fracture more than walking: a randomized controlled trial. *BMC.Musculoskelet.Disord.* **7** 92.

Guyton AC & Hall JE 2000 Regulation of Acid-Base Balance. In *Textbook of Medical Physiology*, edn 10, pp 346-363. Eds AG Guyton & JE Hall. Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Hannan MT, Tucker KL, Dawson-Hughes B, Cupples LA, Felson DT & Kiel DP 2000 Effect of dietary protein on bone loss in elderly men and women: the Framingham Osteoporosis Study. *J.Bone Miner.Res.* **15** 2504-2512.

Heaney RP, Gallagher JC, Johnston CC, Neer R, Parfitt AM & Whedon GD 1982 Calcium nutrition and bone health in the elderly. *Am.J.Clin.Nutr.* **36** 986-1013.

Heaney RP & Recker RR 1994 Determinants of endogenous fecal calcium in healthy women. *J.Bone Miner.Res.* **9** 1621-1627.

Heer, M. WISE-2005: Effects of High protein intake on bone turnover in long-term bed-rest in women. 2015.

Ref Type: Personal Communication

Heer, M, Buehlmeier, J, Smith, SM, Baecker, N, and Frings-Meuthen, P. KHCO<sub>3</sub> prevents increase in bone resorption with high protein in bed rest (MEP Study). *FASEB J.* **27**. 2013.

Ref Type: Abstract

Heer M, Baecker N, Mika C, Boese A & Gerzer R 2005 Immobilization induces a very rapid increase in osteoclast activity. *Acta Astronaut.* **57** 31-36.

Heinrich CH, Going SB, Pamenter RW, Perry CD, Boyden TW & Lohman TG 1990 Bone mineral content of cyclically menstruating female resistance and endurance trained athletes. *Med.Sci.Sports Exerc.* **22** 558-563.

Herrmann M, Muller M, Scharhag J, Sand-Hill M, Kindermann W & Herrmann W 2007 The effect of endurance exercise-induced lactacidosis on biochemical markers of bone turnover. *Clin.Chem.Lab Med.* **45** 1381-1389.

Herrmann M & Seibel MJ 2008 The amino- and carboxyterminal cross-linked telopeptides of collagen type I, NTX-I and CTX-I: a comparative review. *Clin.Chim.Acta* **393** 57-75.

Houston DK, Nicklas BJ, Ding J, Harris TB, Tyllavsky FA, Newman AB, Lee JS, Sahyoun NR, Visser M & Kritchevsky SB 2008 Dietary protein intake is associated with lean mass change in older, community-dwelling adults: the Health, Aging, and Body Composition (Health ABC) Study. *Am.J.Clin.Nutr.* **87** 150-155.



Humayun MA, Elango R, Ball RO & Pencharz PB 2007 Reevaluation of the protein requirement in young men with the indicator amino acid oxidation technique. *Am.J.Clin.Nutr.* **86** 995-1002.

Hunt JR, Johnson LK & Fariba Roughead ZK 2009 Dietary protein and calcium interact to influence calcium retention: a controlled feeding study. *Am.J.Clin.Nutr.* **89** 1357-1365.

Hyun TH, Barrett-Connor E & Milne DB 2004 Zinc intakes and plasma concentrations in men with osteoporosis: the Rancho Bernardo Study. *Am.J.Clin.Nutr.* **80** 715-721.

Itoh R, Nishiyama N & Suyama Y 1998 Dietary protein intake and urinary excretion of calcium: a cross-sectional study in a healthy Japanese population. *Am.J.Clin.Nutr.* **67** 438-444.

Jackman RW & Kandarian SC 2004 The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *Am J Physiol Cell Physiol* **287** C834-C843.

Jehle S, Hulter HN & Krapf R 2013 Effect of potassium citrate on bone density, microarchitecture, and fracture risk in healthy older adults without osteoporosis: a randomized controlled trial. *J.Clin.Endocrinol.Metab* **98** 207-217.

Jehle S, Zanetti A, Muser J, Hulter HN & Krapf R 2006 Partial neutralization of the acidogenic Western diet with potassium citrate increases bone mass in postmenopausal women with osteopenia. *J Am Soc.Nephrol.* **17** 3213-3222.

Jia T, Byberg L, Lindholm B, Larsson TE, Lind L, Michaelsson K & Carrero JJ 2015 Dietary acid load, kidney function, osteoporosis, and risk of fractures in elderly men and women. *Osteoporos.Int.* **26** 563-570.

JORGENSEN K 1957 Titrimetric determination of the net excretion of acid/base in urine. *Scand.J Clin Lab Invest* **9** 287-291.

Kerstetter JE, Kenny AM & Insogna KL 2011 Dietary protein and skeletal health: a review of recent human research. *Curr.Opin.Lipidol.* **22** 16-20.

Kerstetter JE, O'Brien K & Insogna K 2001 Dietary protein and intestinal calcium absorption. *Am.J.Clin.Nutr.* **73** 990-992.

Kerstetter JE, O'Brien KO, Caseria DM, Wall DE & Insogna KL 2005 The impact of dietary protein on calcium absorption and kinetic measures of bone turnover in women. *J.Clin.Endocrinol.Metab* **90** 26-31.

Kerstetter JE, O'Brien KO & Insogna KL 1998 Dietary protein affects intestinal calcium absorption. *Am.J.Clin.Nutr.* **68** 859-865.

Kerstetter JE, O'Brien KO & Insogna KL 2003 Dietary protein, calcium metabolism, and skeletal homeostasis revisited. *Am.J.Clin.Nutr.* **78** 584S-592S.

Kim M, Kim H & Sohn C 2010 Relationship between vitamin K status, bone mineral density, and hs-CRP in young Korean women. *Nutr.Res.Pract.* **4** 507-514.

Kortebein P, Ferrando A, Lombeida J, Wolfe R & Evans WJ 2007 Effect of 10 days of bed rest on skeletal muscle in healthy older adults. *JAMA* **297** 1772-1774.

Kraut JA & Coburn JW 1994 Bone, acid, and osteoporosis. *N.Engl.J.Med.* **330** 1821-1822.

Krieger NS, Bushinsky DA & Frick KK 2003 Cellular mechanisms of bone resorption induced by metabolic acidosis. *Semin.Dial.* **16** 463-466.

Krieger NS, Frick KK & Bushinsky DA 2004 Mechanism of acid-induced bone resorption. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens.* **13** 423-436.

Kurpad AV & Vaz M 2000 Protein and amino acid requirements in the elderly. *Eur.J.Clin.Nutr.* **54 Suppl 3** S131-S142.

Kurtz I, Maher T, Hulter HN, Schambelan M & Sebastian A 1983 Effect of diet on plasma acid-base composition in normal humans. *Kidney Int.* **24** 670-680.

Lambert H, Frassetto L, Moore JB, Torgerson D, Gannon R, Burckhardt P & Lanham-New S 2015 The effect of supplementation with alkaline potassium salts on bone metabolism: a meta-analysis. *Osteoporos.Int.* **26** 1311-1318.

Lang T, LeBlanc A, Evans H, Lu Y, Genant H & Yu A 2004 Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long-duration spaceflight. *J Bone Miner.Res* **19** 1006-1012.

Lanyon LE 1987 Functional strain in bone tissue as an objective, and controlling stimulus for adaptive bone remodelling. *J.Biomech.* **20** 1083-1093.

Lanyon LE 1990 The physiological basis of training the skeleton. The Sir Frederick Smith Memorial Lecture. *Equine Vet.J.Suppl* 8-13.

Lanyon LE 1992 Control of bone architecture by functional load bearing. *J.Bone Miner.Res.* **7 Suppl 2** S369-S375.

LeBlanc A, Schneider V, Spector E, Evans H, Rowe R, Lane H, Demers L & Lipton A 1995 Calcium absorption, endogenous excretion, and endocrine changes during and after long-term bed rest. *Bone* **16** 301S-304S.

LeBlanc AD, Driscoll TB, Shackelford LC, Evans HJ, Rianon NJ, Smith SM, Feeback DL & Lai D 2002 Alendronate as an effective countermeasure to disuse induced bone loss. *J.Musculoskelet.Neurol.Interact.* **2** 335-343.

Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN & Katzmarzyk PT 2012 Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet* **380** 219-229.

Lemann J, Jr. 1999 Relationship between urinary calcium and net acid excretion as determined by dietary protein and potassium: a review. *Nephron* **81 Suppl 1** 18-25.

Lemann J, Jr., Bushinsky DA & Hamm LL 2003 Bone buffering of acid and base in humans. *Am.J.Physiol Renal Physiol* **285** F811-F832.

Lemann J, Jr., Gray RW & Pleuss JA 1989 Potassium bicarbonate, but not sodium bicarbonate, reduces urinary calcium excretion and improves calcium balance in healthy men. *Kidney Int.* **35** 688-695.

Lemann J, Litzow JR & Lennon EJ 1967 Studies of the mechanism by which chronic metabolic acidosis augments urinary calcium excretion in man. *J.Clin.Invest* **46** 1318-1328.

Lemann J, Jr., Pleuss JA, Gray RW & Hoffmann RG 1991 Potassium administration reduces and potassium deprivation increases urinary calcium excretion in healthy adults [corrected]. *Kidney Int.* **39** 973-983.

Lueken SA, Arnaud SB, Taylor AK & Baylink DJ 1993 Changes in markers of bone formation and resorption in a bed rest model of weightlessness. *J.Bone Miner.Res.* **8** 1433-1438.

Luthy C, Moser C & Oetliker O 1977 [Acid-base determination of urine in 3 steps]. *Med Lab (Stuttg)* **30** 174-181.

Macdonald HM, Black AJ, Aucott L, Duthie G, Duthie S, Sandison R, Hardcastle AC, Lanham New SA, Fraser WD & Reid DM 2008 Effect of potassium citrate supplementation or increased fruit and vegetable intake on bone metabolism in healthy postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Am.J.Clin.Nutr.* **88** 465-474.

Macdonald HM, New SA, Fraser WD, Campbell MK & Reid DM 2005 Low dietary potassium intakes and high dietary estimates of net endogenous acid production are associated with low bone mineral density in premenopausal women and increased markers of bone resorption in postmenopausal women. *Am.J.Clin.Nutr.* **81** 923-933.

Mangano KM, Sahni S & Kerstetter JE 2014 Dietary protein is beneficial to bone health under conditions of adequate calcium intake: an update on clinical research. *Curr.Opin.Clin.Nutr.Metab Care* **17** 69-74.

Manz F 2001 History of nutrition and acid-base physiology. *Eur.J.Nutr.* **40** 189-199.

Maurer M, Riesen W, Muser J, Hulter HN & Krapf R 2003 Neutralization of Western diet inhibits bone resorption independently of K intake and reduces cortisol secretion in humans. *Am.J.Physiol Renal Physiol* **284** F32-F40.

Meghji S, Morrison MS, Henderson B & Arnett TR 2001 pH dependence of bone resorption: mouse calvarial osteoclasts are activated by acidosis. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab* **280** E112-E119.

Menkes A, Mazel S, Redmond RA, Koffler K, Libanati CR, Gundberg CM, Zizic TM, Hagberg JM, Pratley RE & Hurley BF 1993 Strength training increases regional bone mineral density and bone remodeling in middle-aged and older men. *J.Appl.Physiol (1985.)* **74** 2478-2484.

Meyer HE, Pedersen JI, Loken EB & Tverdal A 1997 Dietary factors and the incidence of hip fracture in middle-aged Norwegians. A prospective study. *Am.J.Epidemiol.* **145** 117-123.

Miller G, Jarvis J & McBean L 2006 *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*. Boca Raton, FL: CRC Press.

Morgan JL, Zwart SR, Heer M, Ploutz-Snyder R, Ericson K & Smith SM 2012 Bone metabolism and nutritional status during 30-day head-down-tilt bed rest. *J.Appl.Physiol (1985.)* **113** 1519-1529.

Morris RC, Jr., Schmidlin O, Tanaka M, Forman A, Frassetto L & Sebastian A 1999 Differing effects of supplemental KCl and KHCO<sub>3</sub>: pathophysiological and clinical implications. *Semin.Nephrol.* **19** 487-493.

Mullins NM & Sinning WE 2005 Effects of resistance training and protein supplementation on bone turnover in young adult women. *Nutr.Metab (Lond)* **2** 19.

New SA 2002 Nutrition Society Medal lecture. The role of the skeleton in acid-base homeostasis. *Proc.Nutr.Soc.* **61** 151-164.

New SA 2003 Intake of fruit and vegetables: implications for bone health. *Proc.Nutr.Soc.* **62** 889-899.

New SA, Macdonald HM, Campbell MK, Martin JC, Garton MJ, Robins SP & Reid DM 2004 Lower estimates of net endogenous non-carbonic acid production are positively associated with indexes of bone health in premenopausal and perimenopausal women. *Am.J.Clin.Nutr.* **79** 131-138.

NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis 2001 NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy: highlights of the conference. *Southern medical journal* **94** 569-573.

Nilsson BE & Westlin NE 1971 Bone density in athletes. *Clin.Orthop.Relat Res.* **77** 179-182.

Paddon-Jones D, Sheffield-Moore M, Katsanos CS, Zhang XJ & Wolfe RR 2006 Differential stimulation of muscle protein synthesis in elderly humans following isocaloric ingestion of amino acids or whey protein. *Exp.Gerontol.* **41** 215-219.

Paddon-Jones D, Sheffield-Moore M, Urban RJ, Sanford AP, Aarsland A, Wolfe RR & Ferrando AA 2004 Essential amino acid and carbohydrate supplementation ameliorates muscle protein loss in humans during 28 days bedrest. *J.Clin.Endocrinol.Metab* **89** 4351-4358.

Park SM, Jee J, Joung JY, Cho YY, Sohn SY, Jin SM, Hur KY, Kim JH, Kim SW, Chung JH, Lee MK & Min YK 2014 High Dietary Sodium Intake Assessed by 24-hour Urine Specimen Increase Urinary Calcium Excretion and Bone Resorption Marker. *J.Bone Metab* **21** 189-194.

Paul GL 2009 The rationale for consuming protein blends in sports nutrition. *J.Am.Coll.Nutr.* **28 Suppl** 464S-472S.

Pedersen AN, Kondrup J & Borsheim E 2013 Health effects of protein intake in healthy adults: a systematic literature review. *Food Nutr.Res.* **57**.

Pedersen BJ, Schlemmer A, Hassager C & Christiansen C 1995 Changes in the carboxyl-terminal propeptide of type I procollagen and other markers of bone formation upon five days of bed rest. *Bone* **17** 91-95.

Pennings B, Boirie Y, Senden JM, Gijsen AP, Kuipers H & van Loon LJ 2011 Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion more effectively than do casein and casein hydrolysate in older men. *Am.J.Clin.Nutr.* **93** 997-1005.

Phillips SM, Tang JE & Moore DR 2009 The role of milk- and soy-based protein in support of muscle protein synthesis and muscle protein accretion in young and elderly persons. *J.Am.Coll.Nutr.* **28** 343-354.

Pizzorno J, Frassetto LA & Katzinger J 2010 Diet-induced acidosis: is it real and clinically relevant? *Br.J.Nutr.* **103** 1185-1194.

Qin YX, Lam H, Ferreri S & Rubin C 2010 Dynamic skeletal muscle stimulation and its potential in bone adaptation. *J.Musculoskelet.Neurol.Interact.* **10** 12-24.

Rauch F 2009 Vibration therapy. *Dev.Med.Child Neurol.* **51 Suppl 4** 166-168.

Rehner G & Daniel H 2010 Das Blut Transportsystem und Vermittler der Homöostase. In *Biochemie der Ernährung*, pp 363-409. Spektrum Akademischer Verlag.

Reid IR, Ames RW, Evans MC, Gamble GD & Sharpe SJ 1995 Long-term effects of calcium supplementation on bone loss and fractures in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Am.J.Med.* **98** 331-335.

Remer T 2001 Influence of nutrition on acid-base balance--metabolic aspects. *Eur.J Nutr* **40** 214-220.

Remer T, Dimitriou T & Manz F 2003 Dietary potential renal acid load and renal net acid excretion in healthy, free-living children and adolescents. *Am J Clin Nutr* **77** 1255-1260.

Remer T, Krupp D & Shi L 2014 Dietary protein's and dietary acid load's influence on bone health. *Crit Rev.Food Sci.Nutr.* **54** 1140-1150.

Remer T & Manz F 1994 Estimation of the renal net acid excretion by adults consuming diets containing variable amounts of protein. *Am.J.Clin.Nutr.* **59** 1356-1361.

Remer T & Manz F 1995 Potential renal acid load of foods and its influence on urine pH. *J.Am.Diet.Assoc.* **95** 791-797.

Rittweger J, Frost HM, Schiessl H, Ohshima H, Alkner B, Tesch P & Felsenberg D 2005 Muscle atrophy and bone loss after 90 days' bed rest and the effects of flywheel resistive exercise and pamidronate: results from the LTBR study. *Bone* **36** 1019-1029.

Rittweger J, Simunic B, Bilancio G, De Santo NG, Cirillo M, Biolo G, Pisot R, Eiken O, Mekjavic IB & Narici M 2009 Bone loss in the lower leg during 35 days of bed rest is predominantly from the cortical compartment. *Bone* **44** 612-618.

Rizzoli R, Stevenson JC, Bauer JM, van Loon LJ, Walrand S, Kanis JA, Cooper C, Brandi ML, Diez-Perez A & Reginster JY 2014 The role of dietary protein and vitamin D in maintaining musculoskeletal health in postmenopausal women: a consensus statement from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Maturitas* **79** 122-132.

Rubin CT & Lanyon LE 1984 Regulation of bone formation by applied dynamic loads. *J.Bone Joint Surg.Am.* **66** 397-402.

Rubin CT & Lanyon LE 1987 Kappa Delta Award paper. Osteoregulatory nature of mechanical stimuli: function as a determinant for adaptive remodeling in bone. *J.Orthrop.Res.* **5** 300-310.

Sahni S, Cupples LA, McLean RR, Tucker KL, Broe KE, Kiel DP & Hannan MT 2010 Protective effect of high protein and calcium intake on the risk of hip fracture in the Framingham offspring cohort. *J.Bone Miner.Res.* **25** 2770-2776.

Sakhaee K, Maalouf NM, Abrams SA & Pak CY 2005 Effects of potassium alkali and calcium supplementation on bone turnover in postmenopausal women. *J.Clin.Endocrinol.Metab* **90** 3528-3533.

Salanova M, Gelfi C, Moriggi M, Vasso M, Vigano A, Minafra L, Bonifacio G, Schiffl G, Gutschmann M, Felsenberg D, Cerretelli P & Blottner D 2014 Disuse deterioration of human skeletal muscle challenged by resistive exercise superimposed with vibration: evidence from structural and proteomic analysis. *FASEB J.* **28** 4748-4763.

Scheld K, Zittermann A, Heer M, Herzog B, Mika C, Drummer C & Stehle P 2001 Nitrogen metabolism and bone metabolism markers in healthy adults during 16 weeks of bed rest. *Clin.Chem.* **47** 1688-1695.

Schmolke B 2001 [Laboratory diagnosis of osteoporosis]. *Orthopade* **30** 425-436.

Schuette SA, Zemel MB & Linkswiler HM 1980 Studies on the mechanism of protein-induced hypercalciuria in older men and women. *J.Nutr.* **110** 305-315.

Schwingshackl L & Hoffmann G 2014 Comparison of high vs. normal/low protein diets on renal function in subjects without chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS.One.* **9** e97656.

Sebastian A, Frassetto LA, Sellmeyer DE, Merriam RL & Morris RC, Jr. 2002 Estimation of the net acid load of the diet of ancestral preagricultural Homo sapiens and their hominid ancestors. *Am.J.Clin.Nutr.* **76** 1308-1316.

Sebastian A, Harris ST, Ottaway JH, Todd KM & Morris RC, Jr. 1994 Improved mineral balance and skeletal metabolism in postmenopausal women treated with potassium bicarbonate. *N.Engl.J Med* **330** 1776-1781.

Sefrin P 1981 Proteinstoffwechsel. In *Polytrauma und Stoffwechsel*, pp 58-61. Heidelberg: Springer Verlag Berlin.

Seibel MJ & Woitge HW 1999 Basic principles and clinical applications of biochemical markers of bone metabolism: biochemical and technical aspects. *J.Clin.Densitom.* **2** 299-321.

Sellmeyer DE, Stone KL, Sebastian A & Cummings SR 2001 A high ratio of dietary animal to vegetable protein increases the rate of bone loss and the risk of fracture in postmenopausal women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Am.J.Clin.Nutr.* **73** 118-122.

Shackelford LC, LeBlanc AD, Driscoll TB, Evans HJ, Rianon NJ, Smith SM, Spector E, Feedback DL & Lai D 2004 Resistance exercise as a countermeasure to disuse-induced bone loss. *J.Appl.Physiol (1985.)* **97** 119-129.

Shapses SA, Robins SP, Schwartz EI & Chowdhury H 1995 Short-term changes in calcium but not protein intake alter the rate of bone resorption in healthy subjects as assessed by urinary pyridinium cross-link excretion. *J Nutr.* **125** 2814-2821.

Smith SM, Heer MA, Shackelford LC, Sibonga JD, Ploutz-Snyder L & Zwart SR 2012 Benefits for bone from resistance exercise and nutrition in long-duration spaceflight: Evidence from biochemistry and densitometry. *J.Bone Miner.Res.* **27** 1896-1906.

Smith SM, Wastney ME, Morukov BV, Larina IM, Nyquist LE, Abrams SA, Taran EN, Shih CY, Nillen JL, Davis-Street JE, Rice BL & Lane HW 1999 Calcium metabolism before, during, and after a 3-mo spaceflight: kinetic and biochemical changes. *Am.J.Physiol* **277** R1-10.

Stein TP & Blanc S 2011 Does protein supplementation prevent muscle disuse atrophy and loss of strength? *Crit Rev.Food Sci.Nutr.* **51** 828-834.

Strom O, Borgstrom F, Kanis JA, Compston J, Cooper C, McCloskey EV & Jonsson B 2011 Osteoporosis: burden, health care provision and opportunities in the EU: a report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch.Osteoporos.* **6** 59-155.

Stuart CA, Shangraw RE, Peters EJ & Wolfe RR 1990 Effect of dietary protein on bed-rest-related changes in whole-body-protein synthesis. *Am.J.Clin.Nutr.* **52** 509-514.

Tang JE & Phillips SM 2009 Maximizing muscle protein anabolism: the role of protein quality. *Curr.Opin.Clin.Nutr.Metab Care* **12** 66-71.

Teucher B, Dainty JR, Spinks CA, Majsak-Newman G, Berry DJ, Hoogewerff JA, Foxall RJ, Jakobsen J, Cashman KD, Flynn A & Fairweather-Tait SJ 2008 Sodium and bone health: impact of moderately high and low salt intakes on calcium metabolism in postmenopausal women. *J.Bone Miner.Res.* **23** 1477-1485.

Thalacker-Mercer AE, Fleet JC, Craig BA, Carnell NS & Campbell WW 2007 Inadequate protein intake affects skeletal muscle transcript profiles in older humans. *Am.J.Clin.Nutr.* **85** 1344-1352.

Tipton KD, Elliott TA, Cree MG, Wolf SE, Sanford AP & Wolfe RR 2004 Ingestion of casein and whey proteins result in muscle anabolism after resistance exercise. *Med.Sci.Sports Exerc.* **36** 2073-2081.

Tipton KD, Gurkin BE, Matin S & Wolfe RR 1999 Nonessential amino acids are not necessary to stimulate net muscle protein synthesis in healthy volunteers. *J.Nutr.Biochem.* **10** 89-95.

Trappe S, Creer A, Slivka D, Minchev K & Trappe T 2007 Single muscle fiber function with concurrent exercise or nutrition countermeasures during 60 days of bed rest in women. *J.Appl.Physiol (1985.)* **103** 1242-1250.

Tucker KL, Hannan MT & Kiel DP 2001 The acid-base hypothesis: diet and bone in the Framingham Osteoporosis Study. *Eur.J.Nutr.* **40** 231-237.

Turner CH, Forwood MR & Otter MW 1994 Mechanotransduction in bone: do bone cells act as sensors of fluid flow? *FASEB J.* **8** 875-878.

Verschueren SM, Roelants M, Delecluse C, Swinnen S, Vanderschueren D & Boonen S 2004 Effect of 6-month whole body vibration training on hip density, muscle strength, and postural control in postmenopausal women: a randomized controlled pilot study. *J.Bone Miner.Res.* **19** 352-359.

Vormann J & Goedecke T 2006 Acid-Base Homeostasis: Latent Acidosis as a Cause of Chronic Disease. *Schweiz.Zschr.GanzheitsMedizin* **18** 255-266.

Vormann J & Remer T 2008 Dietary, metabolic, physiologic, and disease-related aspects of acid-base balance: foreword to the contributions of the second International Acid-Base Symposium. *J.Nutr.* **138** 413S-414S.

Wachman A & Bernstein DS 1968 Diet and osteoporosis. *Lancet* **1** 958-959.

Walrand S, Guillet C, Salles J, Cano N & Boirie Y 2011 Physiopathological mechanism of sarcopenia. *Clin.Geriatr.Med.* **27** 365-385.

Wang H, Wan Y, Tam KF, Ling S, Bai Y, Deng Y, Liu Y, Zhang H, Cheung WH, Qin L, Cheng JC, Leung KS & Li Y 2012 Resistive vibration exercise retards bone loss in weight-bearing skeletons during 60 days bed rest. *Osteoporos.Int.* **23** 2169-2178.

Waugh EJ, Lam MA, Hawker GA, McGowan J, Papaioannou A, Cheung AM, Hodsman AB, Leslie WD, Siminoski K & Jamal SA 2009 Risk factors for low bone mass in healthy 40-60 year old women: a systematic review of the literature. *Osteoporos.Int.* **20** 1-21.

Weikert C, Walter D, Hoffmann K, Kroke A, Bergmann MM & Boeing H 2005 The relation between dietary protein, calcium and bone health in women: results from the EPIC-Potsdam cohort. *Ann.Nutr.Metab* **49** 312-318.

Welch AA, Bingham SA, Reeve J & Khaw KT 2007 More acidic dietary acid-base load is associated with reduced calcaneal broadband ultrasound attenuation in women but not in men: results from the EPIC-Norfolk cohort study. *Am.J.Clin.Nutr.* **85** 1134-1141.

Whalen RT, Carter DR & Steele CR 1988 Influence of physical activity on the regulation of bone density. *J.Biomech.* **21** 825-837.

Whedon GD 1984 Disuse osteoporosis: physiological aspects. *Calcif.Tissue Int.* **36 Suppl 1** S146-S150.

Winzenberg T, Powell S, Shaw KA & Jones G 2011 Effects of vitamin D supplementation on bone density in healthy children: systematic review and meta-analysis. *BMJ* **342** c7254.

Witard OC, Jackman SR, Breen L, Smith K, Selby A & Tipton KD 2014 Myofibrillar muscle protein synthesis rates subsequent to a meal in response to increasing doses of whey protein at rest and after resistance exercise. *Am.J.Clin.Nutr.* **99** 86-95.

World Health Organization. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. 935. 2011. Geneva, Switzerland, WHO Technical Report Series.

Ref Type: Report

Wright VJ 2006 Osteoporosis in men. *J.Am.Acad.Orthop.Surg.* **14** 347-353.

Wynn E, Lanham-New SA, Krieg MA, Whittamore DR & Burckhardt P 2008 Low estimates of dietary acid load are positively associated with bone ultrasound in women older than 75 years of age with a lifetime fracture. *J.Nutr.* **138** 1349-1354.

Yakar S, Rosen CJ, Beamer WG, Ackert-Bicknell CL, Wu Y, Liu JL, Ooi GT, Setser J, Frystyk J, Boisclair YR & LeRoith D 2002 Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *J.Clin.Invest* **110** 771-781.



Yang Y, Breen L, Burd NA, Hector AJ, Churchward-Venne TA, Josse AR, Tarnopolsky MA & Phillips SM 2012 Resistance exercise enhances myofibrillar protein synthesis with graded intakes of whey protein in older men. *Br.J.Nutr.* **108** 1780-1788.

Zerwekh JE, Ruml LA, Gottschalk F & Pak CY 1998 The effects of twelve weeks of bed rest on bone histology, biochemical markers of bone turnover, and calcium homeostasis in eleven normal subjects. *J.Bone Miner.Res.* **13** 1594-1601.

Zhong Y, Okoro CA & Balluz LS 2009 Association of total calcium and dietary protein intakes with fracture risk in postmenopausal women: the 1999-2002 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Nutrition* **25** 647-654.

Zwart SR, Davis-Street JE, Paddon-Jones D, Ferrando AA, Wolfe RR & Smith SM 2005 Amino acid supplementation alters bone metabolism during simulated weightlessness. *J.Appl.Physiol* (1985.) **99** 134-140.

Zwart SR, Hargens AR & Smith SM 2004 The ratio of animal protein intake to potassium intake is a predictor of bone resorption in space flight analogues and in ambulatory subjects. *Am.J.Clin.Nutr.* **80** 1058-1065.

## 8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank all denen Personen entgegen bringen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt und begleitet haben. Mein besonderer Dank gilt:

Frau Prof. Dr. Martina Heer für die Überlassung des Themas sowie die Möglichkeit die Ergebnisse dieser Arbeit auf Kongressen präsentieren zu dürfen. Außerdem möchte ich ihr für die zahlreichen, intensiven wissenschaftlichen Diskussionen danken, die wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. Sie hat mich zu jeder Zeit voll unterstützt und hat meine Freude an der Wissenschaft verstärkt. Ganz ganz herzlichen Dank für alles!

Herrn Prof. Dr. Stehle möchte ich für die Durchsicht der Arbeit und die Bereitschaft mich zu unterstützen danken.

Frau Dr. Natalie Bäcker für die viele wissenschaftliche und organisatorische Unterstützung während der gesamten Arbeit. Ihre Erfahrungen und Kenntnisse waren eine wertvolle Hilfe. Vielen Dank für die zahlreichen interessanten Diskussionen, die konstruktive Kritik und die tolle Zusammenarbeit!

Frau Dr. Judith Bühlmeier für viele hilfreiche Diskussionen und das Lesen der Arbeit.

Den Mitarbeitern aus MEDES für die tatkräftige Unterstützung in der Durchführung und dem Gelingen des Experiments. Hierbei gilt mein besonderer Dank Marie-Pierre Bareille, Arnaud Beck, Anne de Laforcade und Pascale Vasseur.

Den Probanden für ihre Kooperationsbereitschaft, Engagement und Interesse an dieser Studie.

Frau Annelie Fischer, danke ich für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der Arbeit. Frau Erika Blatzheim und Frau Irmtrud Schrage für ihre Hilfe bei der analytischen Auswertung im Labor.

Der Deutschen Gesellschaft für Luft- und Raumfahrtmedizin e.V. und dem DLR Raumfahrtprogramm Wirtschaft und Technologie unter dem Förderkennzeichen: 50WB1231 für die finanzielle Förderung des Dissertationsprojekts.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie und meinen Freunden, insbesondere Kai, meinen Eltern, Verena und Daniel, für die viele Geduld und die vielen aufbauenden Worte. Danke für die immerwährende Unterstützung und Bestärkung in meinem Tun, den Zuspruch und die

## Danksagung

Ablenkung. Für das Lesen der Arbeit und den wissenschaftlichen Austausch möchte ich Andreas danken. Danke auch an Janina für das Korrekturlesen dieser Arbeit.